

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО РЫБОЛОВСТВУ
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
"Государственный научно-производственный центр рыбного хозяйства"
Г О С Р Ы Б Ц Е Н Т Р

На правах рукописи



Смешливая Наталья Владимировна

**ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РЕПРОДУКТИВНОЙ
ФУНКЦИИ СИГОВЫХ РЫБ ОБЬ-ИРТЫШСКОГО БАССЕЙНА**

03.02.06 Ихтиология

Диссертация на соискание учёной степени кандидата биологических наук

Научный руководитель
кандидат биологических наук,
доцент Семенченко С.М.

Тюмень – 2015

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
Глава 1 Материал и методы исследования	8
Глава 2 Биологическая характеристика производителей и их половых продуктов	18
2.1 Рыбоводно-биологическая характеристика самок и яиц	18
2.1.1 Рыбоводно-биологическая характеристика самок.....	18
2.1.2 Морфологическая характеристика яиц	21
2.1.3 Влияние значения рН воды на диаметр оводнённых яиц	23
2.1.4 Взаимосвязь диаметра яйца и размеров самок.....	32
2.1.5 Динамика перехода гонад самок речной пеляди на V стадию зрелости....	38
2.1.6 Влияние размеров самок на сроки созревания половых продуктов	41
2.2 Рыбоводно-биологическая характеристика самцов и спермы	44
2.2.1 Характеристика самцов	44
2.2.2 Характеристика спермиев	47
2.2.3 Динамика объёма эякулята в течение нерестового периода	48
2.2.4 Динамика концентрации спермиев в эякуляте в течение нерестового периода	55
2.2.5 Взаимосвязь объёма эякулята и размеров самцов	62
2.2.6 Влияние объёма эякулята и размеров самцов на концентрацию спермиев	70
2.2.7 Разовая и общая продукция спермиев	74
Глава 3 Оплодотворение, функциональные особенности половых продуктов..	76
3.1 Функциональные особенности яиц	76
3.1.1 Продолжительность контакта яиц спермы, обеспечивающее эффективное оплодотворение	76
3.1.2 Возможность оплодотворения яиц в овариальной жидкости	78
3.1.3 Влияние возраста самок на оплодотворяемость яиц	80
3.1.4 Динамика оплодотворяемости яиц после активации водой	82
3.1.5 Изменение оплодотворяемости яиц в течение V стадии зрелости гонад самок	84
3.1.6 Зависимость оплодотворяемости яиц от продолжительности хранения ...	88
3.1.7 Зависимость продолжительности оводнения яиц от температуры.....	92
3.1.8 Динамика прочности внешней оболочки яиц	97
3.1.9 Динамика прочности внутренней оболочки яиц	104

3.1.10 Влияние продолжительности контакта яиц с водой после активации на прочность внешней оболочки при последующем хранении	106
3.1.11 Влияние значения рН воды на прочность внешней оболочки яиц	109
3.2 Функциональные особенности спермиев	114
3.2.1 Влияние температуры на продолжительность движения спермиев	114
3.2.2 Динамика оплодотворяющей способности спермиев после активации водой	121
3.2.3 Влияние концентрации спермиев на оплодотворяемость яиц	125
3.2.4 Зависимость оплодотворяющей способности спермиев от продолжительности хранения	129
Глава 4 Зависимость продолжительности одного митотического цикла в период синхронного дробления бластодиска зародышей сиговых рыб от температуры	135
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	142
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	145

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Сиговые рыбы Coregonidae являются объектами массового искусственного воспроизводства в Обь-Иртышском бассейне с середины 60-х годов прошлого века. Подавляющая часть исследований, лежащих в основе биотехники заводского разведения рыб этого семейства, была выполнена в 50-е – 80-е годы [1-15]. Последние 30 лет экспериментальные работы такого рода, за редким исключением, не выполнялись. В частности, это касается эколого-физиологических исследований производителей сиговых, их половых клеток и процесса оплодотворения. Литературные данные не в полной мере соответствуют современному уровню технологического обеспечения сиговодства, имеющиеся сведения фрагментарны, а зачастую, противоречивы. Назрела необходимость критического осмысления существующей технологии сбора икры сиговых рыб на основе системных исследований, направленных на повышение эффективности рыбоводного процесса.

Степень разработанности темы. Первые системные работы, направленные на обоснование и разработку биотехники искусственного воспроизводства сиговых рыб, были проведены К.И. Мишариным [16, 17], Г.А. Головковым с соавторами [2, 18, 19], Н.И. Яндовской и А.И. Гальнбек [1], Ж.А. Черняевым с соавторами [9], А.Н. Кузьминым [11, 12], Г.В. Ефановым [13, 14, 15], Л.В. Кугаевской с соавторами [6, 7]. Полученные данные обеспечили становление сиговодства. Однако, функциональные закономерности, как правило, авторы не раскрывали. Технические возможности для экспериментальных работ были ограничены и возможность управлять факторами среды при проведении исследований, зачастую, отсутствовала. Таким образом, в перечисленных работах количественная связь между параметрами среды и отдельными показателями репродуктивной функции не выявлена, что ограничивает современные технологические возможности.

Цель – исследование эколого-физиологических аспектов репродуктивной функции сиговых рыб Обь-Иртышского бассейна для совершенствования биотехники искусственного воспроизводства.

Задачи:

- 1) Исследовать особенности созревания половых продуктов.
- 2) Изучить эколого-физиологические характеристики половых продуктов.
- 3) Изучить функциональные особенности процесса оплодотворения яиц.
- 4) Оценить зависимость скорости дробления бластодиска развивающегося яйца от температуры.

Научная новизна и теоретическая значимость работы. Впервые изучены:

- зависимость продолжительности движения спермиев от температуры для тугуна *Coregonus tugun*, речной и озёрной форм пеляди *C. peled*, чира *C. nasus* и сига-пыжьяна *C. lavaretus pidschian*;

- взаимосвязь продолжительности оводнения яиц тугуна, речной и озёрной пеляди, чира, сига-пыжьяна, муксуна *C. muksun* и сибирской ряпушки *C. sardinella* с температурой;

- динамика прочности яйцевых оболочек развивающихся яиц тугуна, речной и озёрной пеляди, чира, сига-пыжьяна, муксуна и сибирской ряпушки;

- влияние величины рН воды на диаметр оводнённых яиц тугуна, речной и озёрной пеляди, чира, сига-пыжьяна и муксуна;

- влияние величины рН воды на прочность внешней оболочки яиц чира;

- динамика фертильности половых продуктов речной пеляди, сига-пыжьяна и чира после активации водой;

- зависимость скорости дробления бластодиска яиц муксуна, сига-пыжьяна, сибирской ряпушки и тугуна от температуры.

Практическая значимость работы. На основе учёта специфических особенностей половых продуктов и развивающихся яиц чира модифицированы звенья биотехники сбора, хранения и транспортировки икры этого вида. Рекомендации, представленные в работе, учитываются при проведении работ по сбору икры сиговых рыб на рыбоводном пункте «Рахтынья» (Берёзовский район ХМАО-Югра) и на экспериментальном садковом хозяйстве «Волковское» (Тобольский район). Результаты опытов по хранению половых продуктов сиговых рыб использованы при получении промышленных гибридов на базах сбора икры на оз. Ендырь и Царёво. С 2010 г. на основе уравнений зависимости скорости дробления бластодиска от температуры прогнозируются даты транспортировки икры, выклева предличинок и личинок в Сузгунском инкубационном цехе Тобольского регионального рыбопитомника.

Методология и методы исследования. В ходе исследований были применены стандартные и оригинальные методики. Для анализа результатов использовались методы вариационной статистики.

Основные положения, выносимые на защиту:

- 1) Эколого-физиологические исследования половых продуктов и процесса оплодотворения являются основой для совершенствования биотехники сбора икры.
- 2) Выявленные зависимости скорости дробления бластодиска сиговых рыб от температуры позволяют прогнозировать скорость и продолжительность эмбриогенеза в любом температурном режиме в пределах экологической валентности вида.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность результатов подтверждена воспроизводимостью экспериментальных данных в промышленных условиях при сборе икры сиговых рыб. Основные положения и результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на научных конференциях и научно-производственных совещаниях «Биология, биотехника и состояние запасов сиговых рыб» (г. Тюмень, Россия, 2010 г.); Second NACEE Conference of Young Researchers (г. Сарваш, Венгрия, 2010 г.); «Ак-

вакультура Европы и Азии: реалии и перспективы развития и сотрудничества» (г. Улан-Удэ, Россия, 2011 г.); «Аквакультура России: Вклад молодых» (г. Тюмень, Россия, 2012 г.); «Воспроизводство естественных популяций ценных видов рыб» (г. Санкт-Петербург, Россия, 2013 г.); «Биология, биотехника и состояние запасов сиговых рыб» (г. Тюмень, Россия, 2013 г.); Четвёртая международная конференция молодых учёных НАСИ (г. Санкт-Петербург, Россия, 2014 г.); The 12th International Symposium on the Biology and Management of Coregonid fishes (г. Иркутск, Россия, 2014 г.).

Декларация личного участия. Автор поставил задачи, провёл экспериментальные работы, статистически обработал фактический материал, проанализировал полученные результаты, сформулировал выводы и практическую значимость.

Публикации. По результатам проведённых исследований опубликовано 17 научных работ, в том числе в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, 2 работы.

Структура и объём диссертации. Диссертационная работа включает введение, методическую и экспериментальную части, выводы, заключение, список использованной литературы. Работа изложена на 160 страницах, включает 23 таблицы, 64 рисунка. Список литературы содержит 154 источника, в том числе 26 на иностранных языках.

Благодарности. Выражаю искреннюю благодарность своему учителю и научному руководителю к.б.н. Сергею Михайловичу Семенченко за неоценимую помощь в написании и подготовке диссертационной работы. Благодарю сотрудников отдела Воспроизводства рыбных запасов Госрыбцентра за помощь в проведение экспериментов И.А. Тутулова, О.Ю. Жукова, Ю.О. Брюханову.

Глава 1 Материал и методы исследования

Материалом для исследований служили производители нерестовых стад сиговых рыб Обь-Иртышского бассейна и их половые продукты. Изучение развития яиц ограничивалось ранними стадиями эмбриогенеза.

Часть исследований носит экспериментальный характер и выполнена, в основном, по оригинальным методикам. В данном разделе представлены методики общего характера. Методические особенности отдельных опытов изложены при описании в соответствующих главах.

Экспериментальные работы с тугуном, ряпушкой сибирской, речной экологической формой пеляди, сигом-пыжьяном, чиром проводили в октябре-ноябре 2008 – 2014 гг. на рыбоводном пункте «Рахтынья» (р. Ляпин, бассейн р. Северной Сосьвы). Работы с озёрной экологической формой пеляди и муксуном проводили на экспериментальном садковом хозяйстве «Волковское» (оз. Волково, Тобольский район), где содержатся маточные стада. Половые продукты этих видов доставляли в лабораторию отдела Воспроизводства рыбных запасов ФГУП «Госрыбцентра» (г. Тюмень).

На рыбоводном пункте «Рахтынья» сбор икры сига-пыжьяна, речной пеляди и тугуна осуществляется экологическим методом, основанном на естественном нерестовом поведении [20], а чира – ручным. Под нерестовым сезоном понимали временной отрезок, в течение которого отмечают особи хотя бы одного пола данного вида со зрелыми («текучими») половыми продуктами. Нерестовый период определён как отрезок времени, в течение которого возможен нерест данного вида в связи с одновременным наличием особей обоих полов со зрелыми половыми продуктами.

Сбор материала для оценки размерно-массовых характеристик, возраста и плодовитости производителей в р. Ляпине брали из неводных и сетных уловов в период заготовки в рыбоводных целях. Отлов сига-пыжьяна, речной пеляди и чира производили закидным неравнокрылым речным неводом длиной 450 м с ячеей в мотне – 20 мм, в крыльях – 30 м; в подлёдный период

проводили лов только чира – рамными ставными сетями с ячейёй 60-65 мм. Отлов производителей тугуна проводили 75 метровым речным неводом с ячейёй в мотне – 10 мм, в прикрылках – 16 мм, в крыльях – 18 мм. Сбор ихтиологического материала проводился по стандартным методикам [21, 22]. Стадии зрелости гонад производителей приведены согласно классификации О.Ф. Сакун и Н.А. Буцкой [23].

Размерно-массовые показатели яиц изучали на живом нефиксированном материале. Массу яиц определяли при помощи весов ВЛР-20 с точностью до 0,01 мг, после 10 секундного обсушивания на фильтровальной бумаге. Диаметр яиц измеряли при помощи окуляр-микрометра микроскопа МБС-10 и по оригинальной методике экспресс-методом. [24] В тонкий капилляр с внутренним диаметром, близким к размеру яйца, набирали 20-30 яиц вместе с водой. Затем добивались того, чтобы яйца располагались в капилляре последовательно, цепочкой, без промежутков между ними (рисунок 1). После этого капилляр располагали горизонтально и измеряли общее расстояние, занимаемое всеми яйцами. Затем проводили прямой подсчёт яиц и вычисляли диаметр одного яйца, как частное длины участка капилляра, занятого яйцами, и количества яиц в капилляре. В дальнейших расчётах использовали средний результат. На оценку среднего диаметра одной партии яиц затрачивалось не более двух минут.

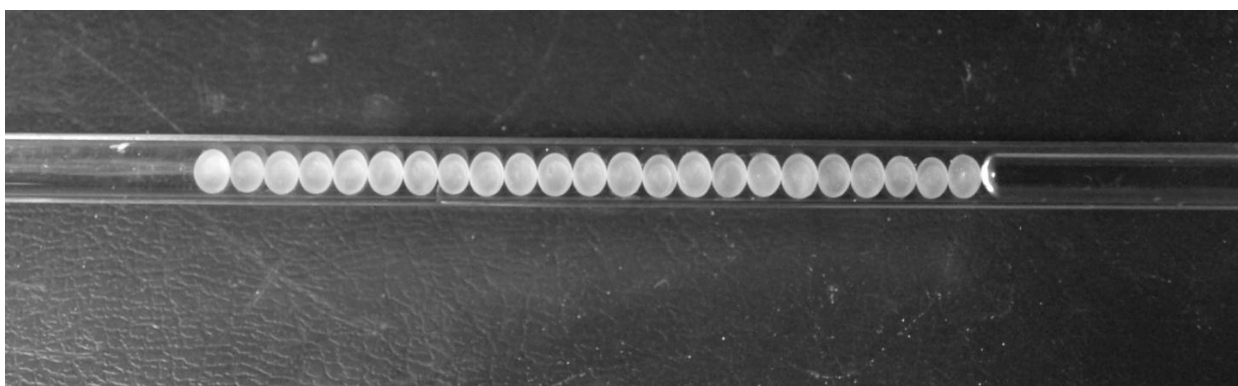


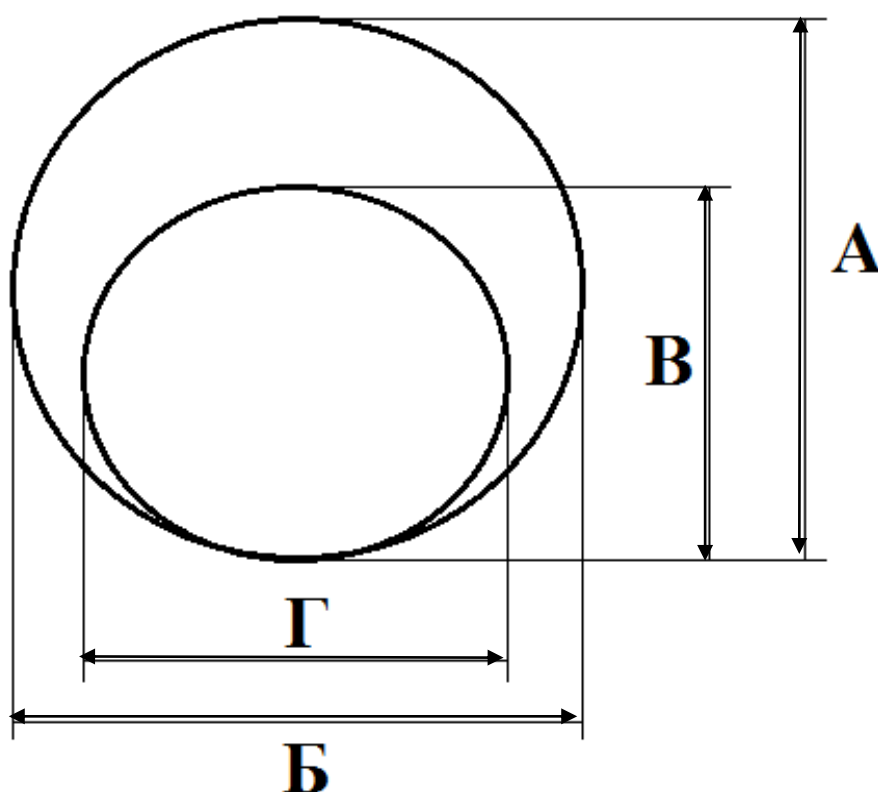
Рисунок 1– Способ размещения яиц в капилляре для измерения диаметра экспресс-методом

Для определения точности предлагаемого метода были сопоставлены результаты параллельного измерения диаметра оводнённых и неоводнённых яиц чира и речной пеляди традиционным способом при помощи микроскопа МБС-10 и по представленной методике. Для чира проведено 13 сравнений среднего диаметра неоводнённых яиц и 15 сравнений оводнённых яиц. У речной пеляди проведено 16 сравнений среднего диаметра неоводнённых яиц и 10 сравнений оводнённых яиц. В каждой серии под микроскопом измерялось по 25 яиц. В среднем, диаметр яйца, измеренный под микроскопом, оказался на 0,31% больше для неоводнённых яиц и на 0,79% для оводнённых яиц по сравнению с результатами экспресс-метода. Наблюдаемые отличия статистически недостоверны для каждого вида при $P < 0,95$.

Для определения доли объёма желтка от объёма яйца различных видов сиговых проведено измерение 50 шт. яиц на стадии бластуляции методом прижизненного бокового микроскопирования [25, 26, 27] при помощи окуляр-микрометра бинокля МБС-10. Для каждого яйца проводили четыре измерения: расстояние от анимального до вегетативного полюса самого яйца (А), расстояние перпендикулярное предыдущему (Б), и аналогичные измерения для желточного мешка (В, Г) (рисунок 2). Объём рассчитывался по формуле эллипсоида вращения.

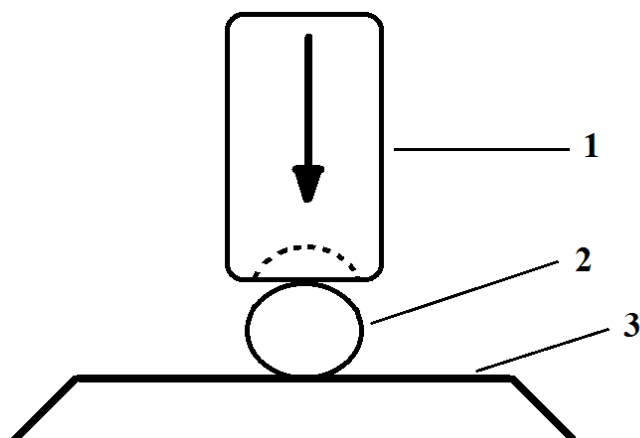
В наших опытах о прочности внешней оболочки оплодотворённого яйца судили косвенно по прочности обеих яйцевых оболочек. Прочность оболочек яиц оценивали аналогично другим исследователям [28, 29, 30] по величине нагрузки, вызывающей их разрыв при сдавливании. В связи с отсутствием стандартных приборов и методик для определения прочности внешней оболочки, нами была использована оригинальная методика, подходящая для проведения опытов в полевых условиях. Оплодотворённые яйца поштучно помещали на чашку электронных лабораторных весов через заданный интервал времени с момента активации их водой. При помощи специального поршня плавно увеличивали нагрузку на яйцо в течение 5 с до его разрушения. Поршнем служил пластиковый цилиндр диаметром 8 мм, с выемкой, со-

ответствующей диаметру яйца. Вертикальное плавное движение поршня оператор обеспечивал вручную (рисунок 3). Визуально регистрировали показание весов, при котором происходил разрыв оболочек. Каждое зафиксированное значение нагрузки, разрушающее яйцо, считалось отдельным опытом. Каждая серия заключалась в последовательном проведении 15-30 опытов. Продолжительность одной серии не превышала 2-3 минут. Для последующего анализа использовали среднюю величину нагрузки, полученную в каждой отдельной серии. В течение первых семи часов развития яиц (до нагрузки 150 г) серии проводили на более чувствительных электронных лабораторных весах CAS SCL150 с ценой деления 0,001 г (Корея), при округлении измеряемого показателя до 1 г. Последующие серии проводили на весах CAS1200 с ценой деления 0,1 г (Корея) и округлении величины нагрузки до 5 г. [31].



А – расстояние от анимального до вегетативного полюса яйца,
Б – поперечный «диаметр» яйца, В – расстояние от анимального до
вегетативного полюса желтка, Г – «поперечный» диаметр желтка

Рисунок 2 – Схема измерения яйца и желтка



1 – поршень; 2 – яйцо; 3 – чаша весов

Рисунок 3 – Схема определения прочности внешней оболочки яйца

О прочности внутренней оболочки оплодотворённых яиц косвенно судили по максимальной высоте, падение с которой вызывало её разрыв у 50% опытных яиц. В каждой серии яйца сбрасывали с закреплённой на определённой высоте полки на стеклянную поверхность. Подобный метод определения прочности внутренней оболочки яиц волжской сельди использовали Н.С. Строганов и Р.И. Мухина [29]. После этого яйца аккуратно собирали и просматривали через 5 мин методом бокового прижизненного микроскопирования [26].

Оплодотворяемость яиц в опытах определяли методом бокового микроскопирования на стадии средноклеточной морулы [26].

Определение качества половых продуктов самцов рыб проводили по общепринятой методике [32]. Сперму получали методом прижизненного отцеживания. Самцы перед отцеживанием подвергались анестезии. В качестве анестетика использовали гвоздичное масло [33]. Сперму собирали, массируя брюшко самца по направлению от головы к половому отверстию. Эякулят отцеживали на чистую и сухую чашку Петри, избегая попадания крови, фекалий и воды. Массу эякулята измеряли на весах Casio SCL 150 (Корея) с точностью 0,005 г. Объём порции эякулята рассчитывали как частное массы порции эякулята и его удельного веса. Для определения удельного веса эякулята пикнометр объёмом 25 мл взвешивали на весах Casio SCL 150 и затем

заполняли его спермой от 14-20 самцов чира. Сперму отбирали непосредственно перед измерением. Заполненный пикнометр снова взвешивали, что позволяло определить массу отмеренного объёма спермы и затем рассчитать удельный вес. С целью технического упрощения измерений для сбора спермы использовали самцов чира, так как они продуцируют наибольший объём эякулята среди исследуемых сиговых рыб [34]. Температура спермы в пикнометре составляла 2,5°C. Среднее значение удельного веса спермы по трём измерениям составило $1,034 \pm 0,001$ г/см³. Это значение использовали при оценке объёма эякулята остальных видов рыб.

Удельную продукцию эякулята рассчитывали как отношение объёма единовременно сцеженной порции эякулята к массе самца в период массового созревания самок.

Концентрацию спермиев определяли двумя способами: прямым подсчётом в камере Горяева по стандартной методике и фотоэлектроколориметрическим методом [32]. Определение концентрации спермиев с помощью камеры Горяева проводят визуальным подсчётом, при этом на обработку одной пробы затрачивается 15-20 мин. Фотоэлектроколориметрический метод основан на способности спермы ослаблять пропускаемый через неё пучок света пропорционально её концентрации. По результатам прямых оценок концентрации спермы в пробе и параллельных замеров величины светового потока, проходящего через эту же пробу эякулята в стандартных условиях, устанавливается функциональная зависимость, которая в последующем может использоваться для косвенной оценки концентрации спермиев. Такой метод менее трудоёмкий, на одну пробу тратится не более минуты, но для его реализации необходимо выполнить соответствующую предварительную экспериментальную работу. Для фотоэлектрического метода использовали фотоэлектроколориметр (ФЭК) АРЕL-101. Светофильтр использовали с длиной волны 420 нм. Разбавление спермы проводили в 100 раз. При измерении светопропускания раствора использовали вертикальную кювету размерами 10x10x45 мм. Объем раствора спермиев и воды в кювете составлял 2 мл.

Для выяснения зависимости концентрации спермиев от величины светопропускания параллельно проводили анализ эякулята 30 самцов чира при помощи ФЭК и камеры Горяева.

Зависимость светопропускания раствора от концентрации спермиев имеет линейный характер ($r = -0,96$; $P \geq 0,999$) и представлена на рисунке 4.

Связь коэффициента светопропускания (T , %) с концентрацией спермиев (C млрд шт./мл) аппроксимирована уравнением (1):

$$T = -0,1883 * C + 12,179 \quad (R^2 = 0,924; n = 30) \quad (1)$$

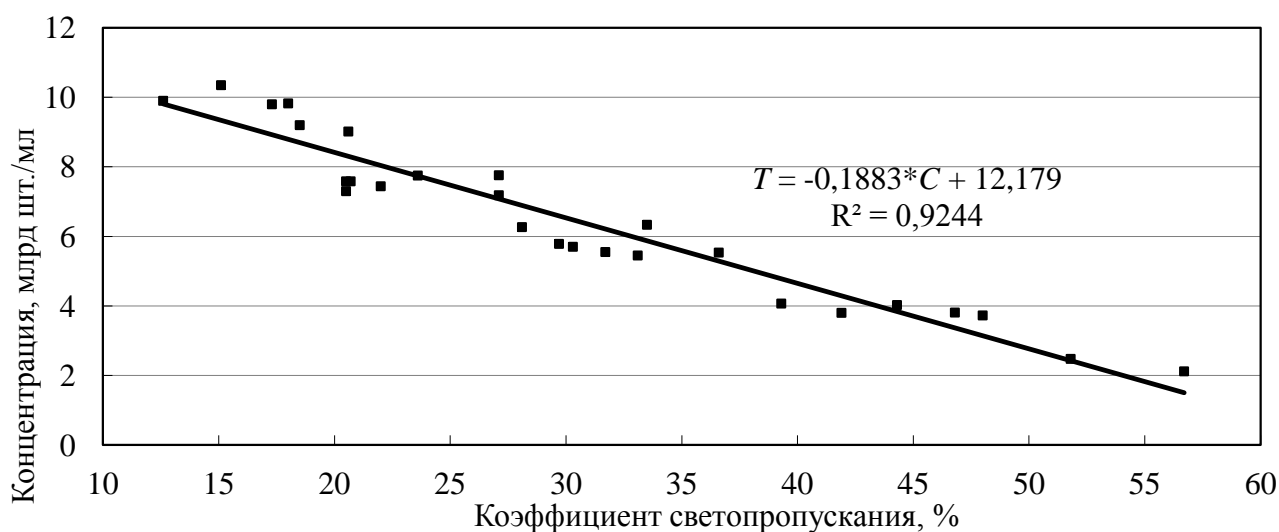


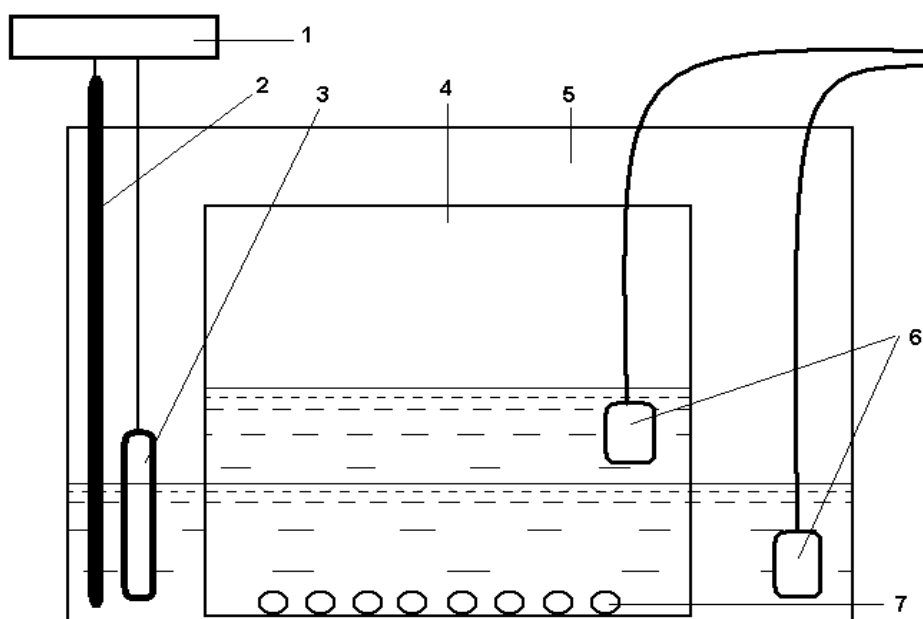
Рисунок 4 – Зависимость коэффициента светопропускания раствора от концентрации спермиев при разбавлении в 100 раз в дистиллированной воде (светофильтр 420 нм)

Физические свойства спермы у сиговых разных видов не отличаются, данное уравнение может использоваться для определения концентрации спермиев в эякуляте и у других представителей семейства при соблюдении стандартных условий измерений.

Измерение спермиев проводили по фотографиям, сделанным при помощи микроскопа Микромед-3 и фотокамеры Digital Camera for Microscope DCM500. Двигательную активность спермиев измеряли при помощи микроскопа Ломо Микмед-1. При измерении продолжительности движения спермиев добивались того, чтобы температура воздуха, микроскопа, предметного стекла и воды, используемой для активации, была одинаковой. Приблизительно 0,01 мл спермы помещали на покровное стекло и добавляли 0,1 мл

воды для активации спермиев. Поскольку, по нашим наблюдениям, продолжительность активации спермиев не превышает 0,5 с, момент соприкосновения спермиев с водой считали началом движения. В опытах регистрировали момент перехода 50% спермиев из поступательного движения в колебательное, продолжительность поступательного движения и общую продолжительность движения.

Для определения зависимости скорости дробления бластодиска тугуна, муксуна, ряпушки сибирской и сига-пыжьяна от температуры половые продукты получали от полноценных производителей. Яйца каждого вида осеменяли и инкубировали в термостатируемых аквариумах при различных температурных режимах. Технологическая схема обеспечения постоянной температуры в опытном аквариуме представлена на рисунке 5.



- 1 – электрореле, 2 – контактный термометр, 3 – нагреватель, 4 – опытный аквариум, 5 – контурный аквариум, 6 – распылители воздуха микрокомпрессора, 7 – яйца

Рисунок 5 – Схема экспериментальной установки, обеспечивающей стабильный температурный режим инкубации яиц рыб

Необходимая температура в опытном аквариуме поддерживалась при помощи контактного термометра и нагревателя, помещённых в контурный аквариум. В случае необходимости, аквариумы размещались в холодильной витрине, обеспечивающей пониженный температурный фон. Циркуляция во-

ды, как в контурном, так и в опытном аквариумах обеспечивалась микрокомпрессорами. Колебания температуры не превышали $\pm 0,2^{\circ}\text{C}$. Значения периодически измеряемой температуры в каждом опыте осреднялись. Процесс дробления бластодиска наблюдали прижизненно методом бокового микрофотографирования [26]. В опытах последовательно фиксировали моменты появления борозд первых четырёх делений дробления, начиная с момента осеменения. Просмотры проводили с периодичностью 10-15 мин. Продолжительность одного митотического цикла в период синхронных дроблений бластодиска считали равной половине интервала между появлением борозд II и IV деления дробления [35].

Вода для экспериментальных работ отбиралась из р. Ляпин и из оз. Волково. Вода из обоих источников водоснабжения относится к гидрокарбонатному классу кальциевой группы со слабой минерализацией (таблица 1).

Таблица 1 – Основные гидрохимические показатели воды из р. Ляпин и оз. Волково, октябрь, 2011 г.

Показатели	Ед. измерения	Водоём	
		р. Ляпин	оз. Волково
pH		6,77	7,81
БПК ₅	мгО/дм ³	2,83	3,1
Перм. окисл.	мгО/дм ³	8,71	8
Na ⁺ +K ⁺	мг/дм ³	5,85	16,48
Ca ²⁺	мг/дм ³	6,41	22,04
Mg ²⁺	мг/дм ³	0,97	8,51
HCO ₃ ⁻	мг/дм ³	24,41	115,94
Жесткость общ.	мг*экв/дм ³	0,4	1,8
Cl ⁻	мг/дм ³	4,25	19,14
SO ₄ ²⁻	мг/дм ³	5,48	0,91
NH ₄ ⁺	мг/дм ³	0,39	0,13
NO ₂ ⁻	мг/дм ³	0,006	<0,006
NO ₃ ⁻	мг/дм ³	<0,1	<0,1
PO ₄ ³⁻	мг/дм ³	0,12	0,05
Fe общ.	мг/дм ³	0,76	0,13
Сумма ионов	мг/дм ³	47,37	183,02
Цветность	град.	74	28

Величина рН и сумма ионов в воде из р. Ляпина в период сбора материала составляли 6,8 единиц и 47,4 мг/дм³ соответственно, из оз. Волково – 7,8 единицы и 183,0 мг/дм³ соответственно. В диссертационной работе при описании экспериментов указывается источник воды.

Весь собранный материал был обработан с применением методов вариационной статистики [36], построение графиков проведено в программе Microsoft Office Excel.

За период проведения исследований по диссертационной работе проведена оценка размерно-массовых характеристик, возраста и плодовитости у 1147 производителей сиговых; измерен диаметр яиц в 472 сериях; определена прочность внешней оболочек яиц в 439 сериях; прочность внутренней оболочки яиц определена в 135 сериях; проведено 526 измерений объёма эякулята и 302 измерения концентрации спермиев; измерено 53 спермия; проведено 446 измерений продолжительности движения спермиев; 45 измерений скорости дробления бластодиска; обработано 1145 проб на определение оплодотворяемости яиц.

Глава 2 Биологическая характеристика производителей и их половых продуктов

2.1 Рыбоводно-биологическая характеристика самок и яиц

2.1.1 Рыбоводно-биологическая характеристика самок

Рыбоводно-биологическая характеристика самок из нерестовых стад р. Ляпина представлена за период с 2008 по 2011 годы.

Тугун. За период наблюдения основную долю самок в уловах составляли двухлетние особи, иногда трёхлетние. В частности, в 2008 г. преобладали трёхлетние самки – 53%, двухлетних самок было немного меньше половины – 45%. В 2009-2011 г. основная часть самок была представлена двухлетними особями, на которых приходилось 89-98% от общего количества выловленных самок. В нерестовом стаде также встречались 1-5% четырёх- и пятилетних самок.

Средняя промысловая длина самок тугуна за годы наблюдений была в пределах от 10,6 до 11,1 см, средняя масса – в интервале от 15,1 до 17,3 г. Абсолютная индивидуальная плодовитость (АИП) тугуна не велика и её среднее значение в разные годы составляло от 1,1 до 1,3 тыс. шт. Однако, относительная индивидуальная плодовитость (ОИП) тугуна по сравнению с другими сиговым намного выше – при средних значениях от 75 до 83 шт./г (таблица 2).

Речная пелядь. За период наблюдений в нерестовом стаде речной пеляди из р. Ляпина встречались самки в возрасте от 5+ до 11+. Основную долю составляли семи- девятилетние особи на которых приходилось ежегодно от 25 до 35% от общего количества выловленных самок.

Средняя промысловая длина самок за годы наблюдений была в пределах от 29,8 до 30,8 см, средняя масса – в интервале от 387 до 460 г. Средние значения АИП колебались в пределах от 22,4 до 28,2 тыс. шт. Средняя величина ОИП изменялась от 58 до 60 шт./г (таблица 2).

Таблица 2 – Основные рыбоводно-биологические показатели самок сиговых рыб из нерестового стада р. Ляпин, 2008-2011 гг.

Показатели	Годы											
	2008			2009			2010			2011		
	Min	Max	Хср.	Min	Max	Хср.	Min	Max	Хср.	Min	Max	Хср.
Тугун												
Возраст, годы	1+	4+	1,6	1+	3+	1,1	1+	4+	1,1	1+	2+	1
Промысловая длина, см	10,3	15,8	10,8	10,3	13,9	10,6	10,7	16,4	11,1	10,8	13,2	10,9
Масса тела, г	13,2	45,9	15,2	13,3	34	15,1	15,2	51,1	17,3	15,5	28,4	15,8
АИП, тыс. шт.	0,9	4,7	1,1	1,0	3,1	1,2	1,1	7,5	1,4	1,2	2,8	1,3
ОИП, шт./г	71	102	75	75	91	78	75	132	83	81	97	81
Речная пелядь												
Возраст, годы	4+	10+	7,0	5+	9+	7,3	4+	11+	6,8	5+	11+	7,3
Промысловая длина, см	26,3	34,5	30,2	26,1	35,5	30,8	26,3	36,8	30,6	24,5	37,5	29,8
Масса тела, г	267,0	673,1	427,0	225,1	718,2	419,0	244,4	917,8	460,4	193,2	835,0	387,0
АИП, тыс. шт.	15,6	41,1	25,6	10,1	49,4	25,4	13,6	61,7	28,2	9,2	58,7	22,4
ОИП, шт./г	58	61	60	54	60	59	56	67	61	47	70	58
Сиг-пыжьян												
Возраст, годы	-	-	-	5+	9+	6,7	5+	9+	6,9	5+	10+	7,1
Промысловая длина, см	25,0	35,0	27,9	26,6	30,5	28,0	24,2	34,5	29,7	25,2	31,5	28,5
Масса тела, г	203,3	687,0	267,5	248,6	400,5	301,3	183,0	588,0	394,2	220,3	470,0	339,7
АИП, тыс. шт.	10,3	16,6	11,2	11,0	19,4	13,9	17,1	31,4	22,7	11,3	27,7	19,0
ОИП, шт./г	37	48	42	44	48	42	55	60	58	51	59	56
Чир												
Возраст, годы	5+	11+	7,4	7+	9+	8,0	-	-	-	7+	10+	8,3
Промысловая длина, см	37,5	48,5	39,6	41	42,3	41,6	35,7	50,3	40,9	36,4	47,5	41,4
Масса тела, г	835,0	2041,0	1023,0	1148,0	1317,0	1234,1	751,0	2150,0	1148,3	773,0	2133,0	1327,8
АИП, тыс. шт.	-	-	-	33,9	42,9	38,8	-	-	-	-	-	-
ОИП, шт./г	-	-	-	30	33	31	-	-	-	-	-	-

Сиг-пыжьян. За период наблюдений в нерестовом стаде сига-пыжьяна встречались самки в возрасте от 5+ до 11+ лет. В уловах основную долю составляли самки в возрасте 7+, в некоторые годы преобладали самки в возрасте 6+ . Данные возрастные группы ежегодно в уловах составляли 19-35%.

Средняя промысловая длина самок в исследуемый период колебалась от 27,9 до 30,5 см, средняя масса – от 301 до 394 г. Средние значения АИП были в пределах от 11,2 до 22,7 тыс. шт., средние значения ОИП – от 42 до 58 шт./г (таблица 2).

Чир. За период наблюдений возраст самок чира в уловах был в пределах от 5+ до 11+ лет. Основную долю в уловах составляли восьмилетние особи, их встречаемость в уловах достигала 58%.

Средняя промысловая длина самок чира за годы наблюдения была в пределах от 39,6 до 41,6 см, средняя масса колебалась от 1023 до 1328 г. По техническим причинам АИП и ОИП определялось у самок чира только в 2009 г. Среднее значение АИП составило 38,8 тыс.шт., среднее значение ОИП – 31 шт./г (таблица 2).

Сибирская ряпушка. Периодически в уловах встречались половозрелые особи сибирской ряпушки в незначительном количестве. Возраст отловленных самок составлял от 4+ до 5+ лет. Промысловая длина находилась в интервале от 21,4 до 25,2 см при среднем значении 24,0 см. Масса самок колебалась от 185,5 до 206,0 г при среднем значении 187,0 г. По техническим причинам определение плодовитости самок не проводилось.

На экспериментальном садковом хозяйстве «Волковское» содержатся маточные стада тугуна, речной и озёрной пеляди, муксуна и чира. Возраст самок тугуна за период сбора материала составлял 1+. Средняя промысловая длина самок тугуна составляла от 10,4 до 13,5 см, масса – от 17,4 до 26,0 г. Возраст самок речной пеляди находился в интервале от 3+ до 5+, средняя промысловая длина – от 26,0 до 29,6 см, масса – от 197 до 389 г. Возраст самок озёрной пеляди был в пределах от 2+ до 5+. Средняя промысловая длина самок озёрной пеляди составляла от 26,6 до 33,3 см, масса – от 227 до 728 г.

Возраст самок муксуна составлял от 3+ до 5+, средняя промысловая длина – от 43,9 до 46,6 см, масса – от 1557 до 2380 г. Возраст самок чира составлял от 3+ до 5+, средняя промысловая длина – от 41,9 до 43,9 см, масса – от 1414 до 1822 г.

2.1.2 Морфологическая характеристика яиц

Размеры яиц сиговых рыб видоспецифичны. В 2013 г. в средний диаметр неоводнённых овулировавших яиц был в пределах от $1,52 \pm 0,04$ мм у тугуна до $2,19 \pm 0,02$ мм у чира. Средний диаметр оплодотворённых яиц, оводнённых в воде с нейтральной реакцией среды [37, 38], находился в интервале от $1,81 \pm 0,08$ мм у тугуна до $3,10 \pm 0,12$ мм у чира (таблица 3).

Таблица 3– Основные характеристики яиц сиговых рыб из промышленных сборов, 2013 г. (n=50)

Вид	Диаметр неоводнённых яиц, мм			Диаметр оводнённых яиц, мм			Доля объёма желтка от объёма яйца, %		
	Хср.	$\pm m_x$	CV, %	Хср.	$\pm m_x$	CV, %	Хср.	$\pm m_x$	CV, %
Тугун	1,52	0,04	4,7	1,81	0,08	3,1	43,2	0,7	11,7
Ряпушка сибирская	1,54	0,02	5,2	1,86	0,09	3,3	40,2	0,5	8,7
Речная пелядь	1,66	0,02	5,3	1,92	0,09	3,2	43,8	0,6	9,6
Озёрная пелядь	1,74	0,02	4,7	2,07	0,11	3,7	48,2	1,0	14,0
Сиг-пыжьян	1,99	0,04	7,5	2,34	0,12	3,7	45,5	0,7	11,4
Чир	2,19	0,02	3,1	3,10	0,22	5,0	37,1	0,8	14,3
Муксун	1,89	0,02	4,2	2,45	0,12	3,4	42,7	0,7	12,3

После оводнения в воде с нейтральной реакцией среды наибольшая доля объёма желтка от объёма яйца отмечалась у озёрной пеляди – 48%, наименьшая – у чира при значении 37%. У остальных исследованных видов доля объёма желтка составляла 40-45% (рисунок 6). Между объёмом яйца и долей объёма желтка у отдельного вида обнаружена статистически недостоверная ($P < 0,95$; $n = 50$) слабая отрицательная корреляция в пределах от -0,24 у ряпушки сибирской до -0,28 у озёрной пеляди. Однако, у видов с яйцами большего размера – чир и муксун – отрицательная связь была достоверная при высоком уровне значимости ($P \geq 0,99$; $n = 50$). Коэффициент корреляции для чира составлял - 0,71 ; для муксуна – -0,47.

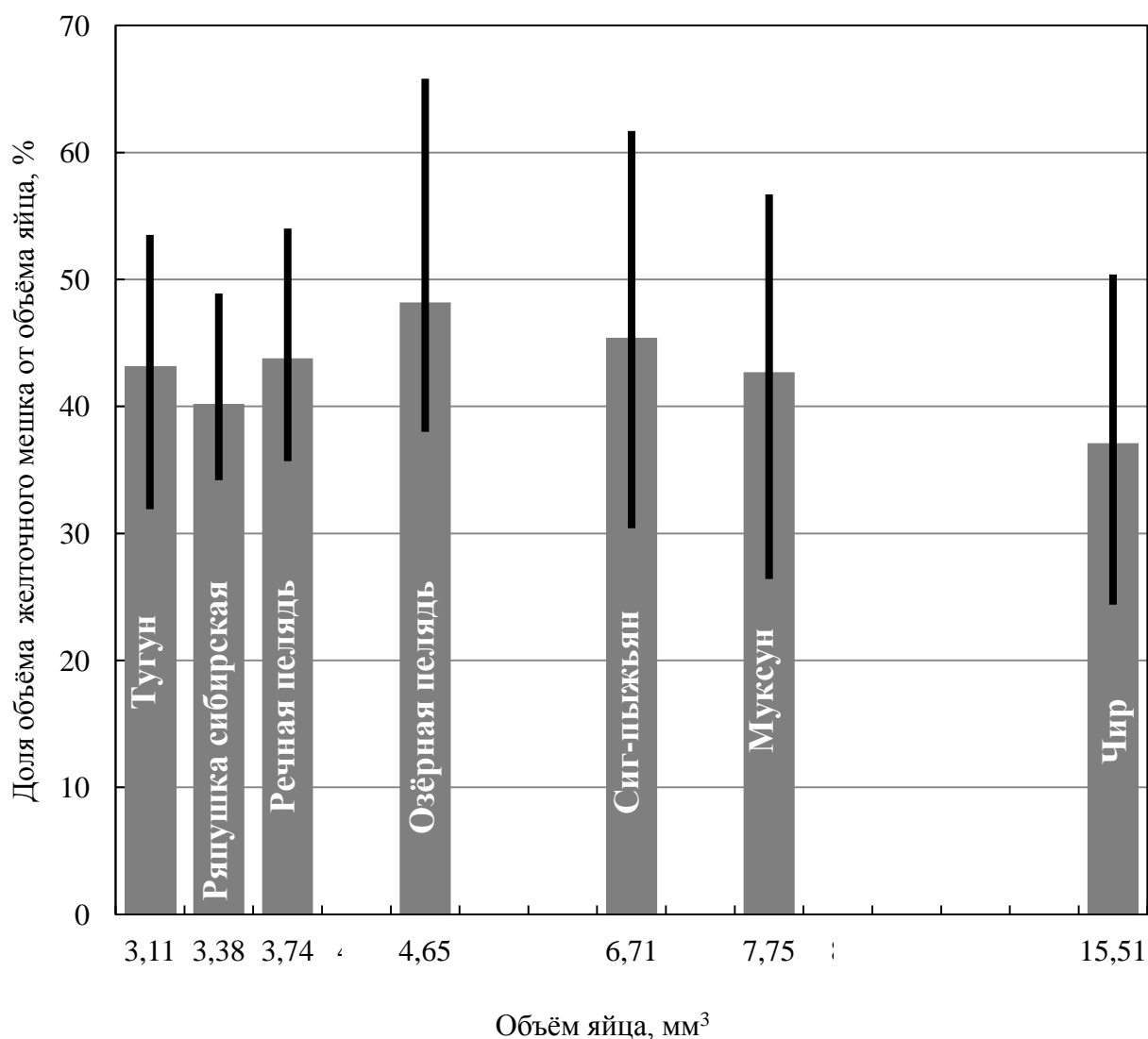


Рисунок 6 – Средние значения объёма яиц сиговых рыб и доли объёма желтка от объёма яйца, 2013 г.

Между средними величинами объёма яйца и доли объёма желтка каждого вида также обнаружена отрицательная корреляция ($r = -0,53$; $P < 0, 95$; $n = 7$) при низком уровне достоверности (рисунок 6). Необходимо отметить, что отрицательную связь определяют только яйца чира, имеющие самый большой из изученных видов объём и меньшую долю объёма желтка от объём яйца.

По данным О.А. Лебедевой [39, 40], доля объёма желтка от объёма оводнённого яйца у обских сиговых рыб, акклиматизированных на Северо-Западе России, составляет у озёрной пеляди 55%, муксуна – 48% и чира – 44%. Л.В. Кугаевская [41] определяла иной показатель – долю перивителли-

нового пространства по отношению к диаметру желтка оводнённых яиц у некоторых сиговых Обь-Иртышского бассейна. По данным автора, величина, изучаемого показателя, для большинства изученных сиговых составляет от 15 до 23%. Наиболее развитое перивителлиновое пространство автор отмечает у яиц чира – 38%.

Несмотря на различия в значениях доли объёма желтка от объёма яйца наших данных от литературных, порядок расположения видов по уменьшению объёма перивителлинового пространства (чир → муксун → озёрная пелядь) сохраняется.

2.1.3 Влияние значения рН воды на диаметр оводнённых яиц

Активная реакция среды – важный биотехнический показатель, существенно влияющий на эффективность всех рыбоводных процессов, включая сбор икры для последующей инкубации. В частности, ряд авторов [2, 42, 43, 44, 45, 46] указывает на существенное влияние величины рН воды, используемой в технологическом процессе, на клейкость, прочность яйцевых оболочек, оплодотворяемость и выживаемость яиц. Однако, влияние рН воды на размер яиц сиговых рыб после оводнения в литературе не рассмотрен.

Цель – оценка влияния величины рН воды на размер оводнённых яиц сиговых рыб.

Материалом для исследования служили нефиксированные овулировавшие яйца тугуна, речной и озёрной форм пеляди, муксуна и чира. Экспериментальные работы с яйцами муксуна, чира и озёрной пеляди проводили в лаборатории Госрыбцентра в ноябре-декабре 2012-2014 гг. Половые продукты были получены от производителей, содержащихся на экспериментальном садковом хозяйстве «Волковское». Яйца доставляли в лабораторию в изотермическом контейнере. Опыты с яйцами от производителей из естественных нерестовых стад тугуна, речной пеляди и сига-пыжьяна проводили на рыбоводном пункте «Рахтынья» в октябре 2014 г. Опыты с муксуном, озёрной пелядью и чиром проводили на воде из оз. Волково. Исходное значение рН в

воде на момент проведения опытов – 7,8-8,0 единиц. Для опытов с тугуном и речной пелядью использовали воду из р. Ляпина при значении рН воды 6,8-6,9 единиц. Температура воды в опытах составляла 0,5-1,5°C. Для снижения значения рН воды использовали серную кислоту, для повышения – натрия гидроксид. Значение рН в опытах изменяли от 5,0 до 9,5 единиц. Измерение диаметра оводнённых нефиксированных яиц проводили через сутки после начала оводнения при помощи окуляр-микрометра бинокля МБС-10. Данный интервал времени достаточен для завершения оводнения [47]. В каждом опыте измеряли по 25-50 яиц, для анализа использовали среднее значение диаметра. Для того чтобы исключить влияние индивидуальных особенностей самок на результаты опытов, в каждой серии использовали яйца от одной особи. Для определения влияния величины рН воды на размеры желтка использовали осреднённую смесь яиц, полученную от пяти самок чира. С яйцами тугуна, речной и озёрной пеляди, сига-пыжьяна было проведено по 3 серии опытов, с яйцами чира – 4 серий, с муксуна – 2 серии. Всего был промерен диаметр 4829 яиц. Оплодотворение яиц в опытах не проводилось. Ранее нами было установлено, что факт оплодотворения на процесс оводнения яйца и его конечный диаметр влияние не оказывает. Ранее эту особенность яиц костистых рыб описали А.И.Зотин [29] и А.Ф. Турдаков [48].

Исследования показали, что у всех видов наблюдается тесная прямая зависимость между диаметром яиц после завершения оводнения и значением рН воды. В частности, в исследованном диапазоне значений рН воды от 5,5 до 9,5 единиц средний диаметр яиц тугуна в трёх сериях изменился от $1,85 \pm 0,01$ до $1,98 \pm 0,01$ мм (рисунок 7). У яиц озёрной пеляди средний диаметр увеличился с $2,13 \pm 0,02$ до $2,21 \pm 0,02$ мм (рисунок 8), речной пеляди – с $2,05 \pm 0,01$ до $2,17 \pm 0,01$ мм (рисунок 9). Средний диаметр яиц сига-пыжьяна изменился от $2,40 \pm 0,01$ до $2,53 \pm 0,01$ мм (рисунок 10). У яиц муксуна в первой серии средний диаметр изменился от $2,22 \pm 0,02$ до $2,56 \pm 0,02$ мм, во второй серии – с $2,49 \pm 0,01$ до $2,71 \pm 0,01$ мм (рисунок 11).

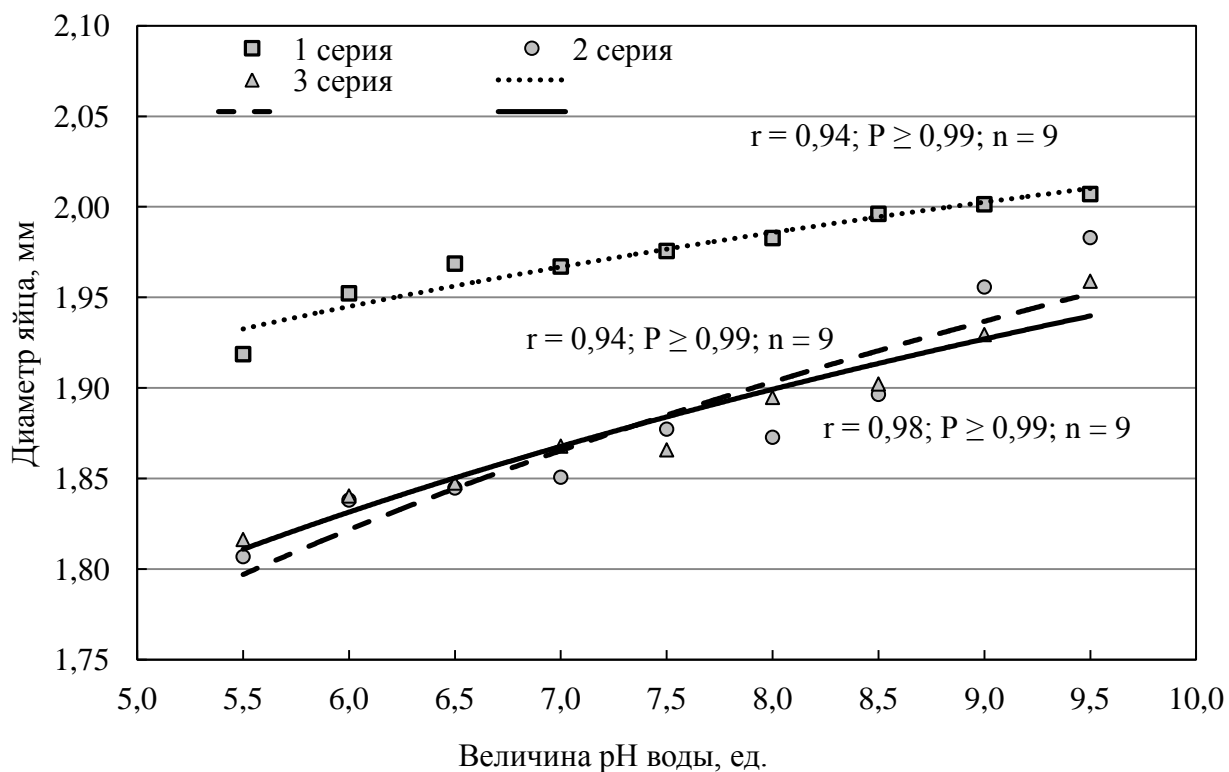


Рисунок 7 – Зависимость диаметра оводнённых яиц тугуна от величины pH воды

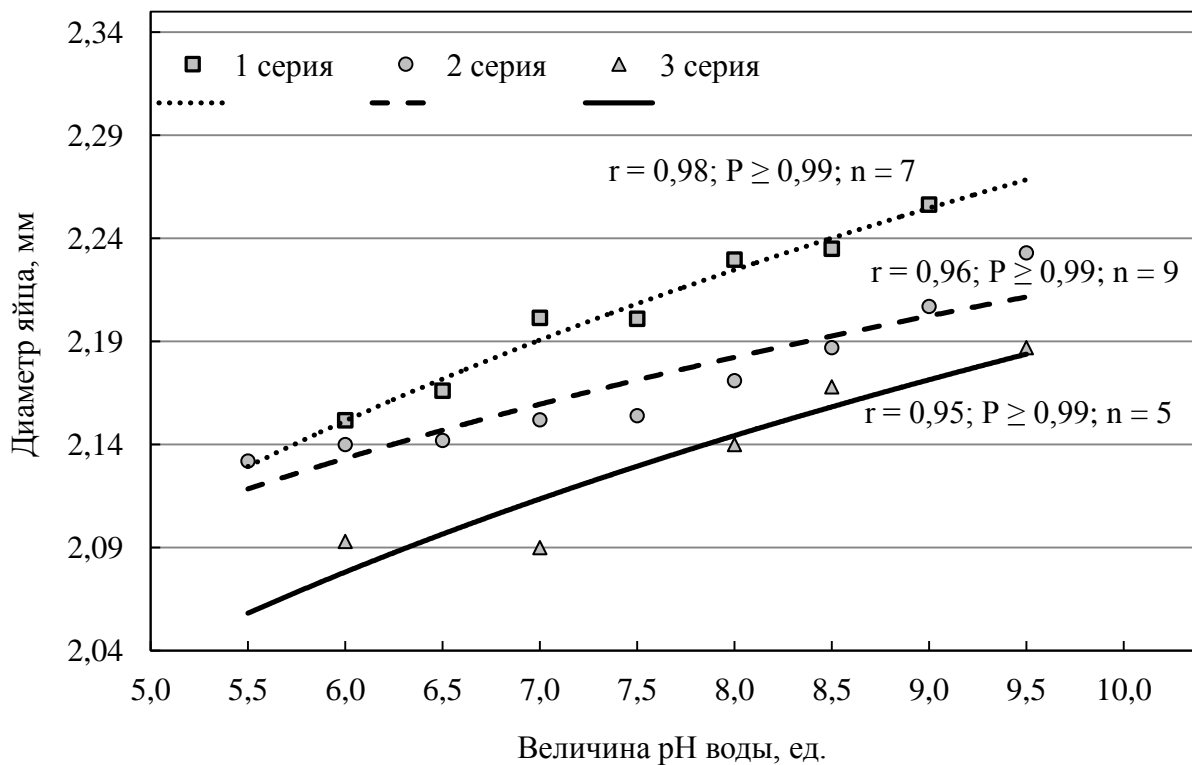


Рисунок 8 – Зависимость диаметра оводнённых яиц озёрной пеляди от величины pH воды

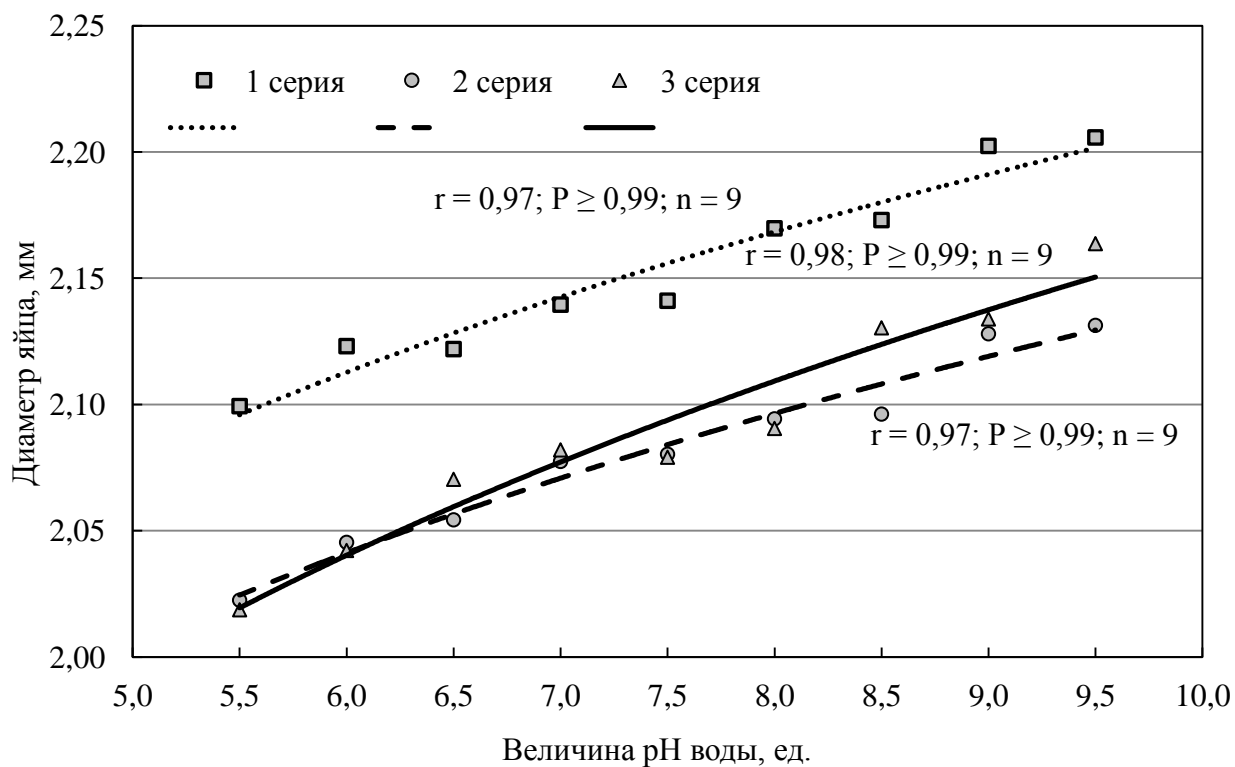


Рисунок 9 – Зависимость диаметра оводнённых яиц речной пеляди от величины pH воды

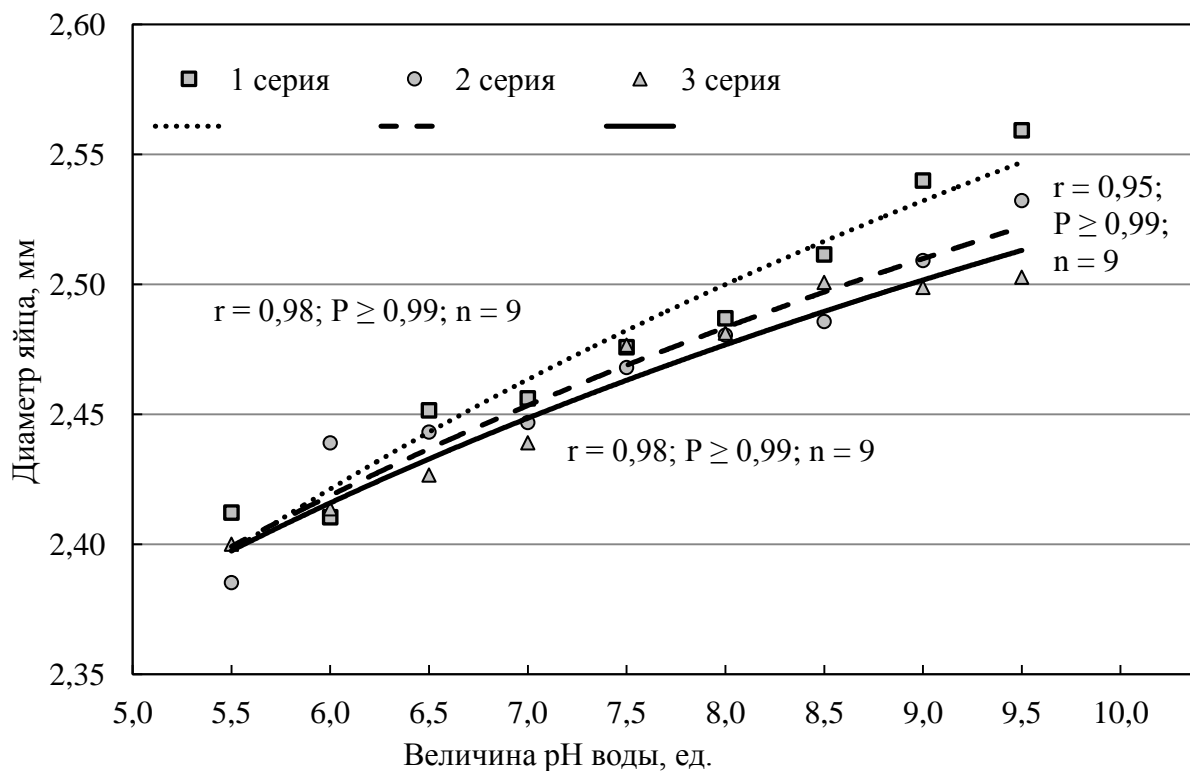


Рисунок 10 – Зависимость диаметра оводнённых яиц сига-пыжьяна от величины pH воды

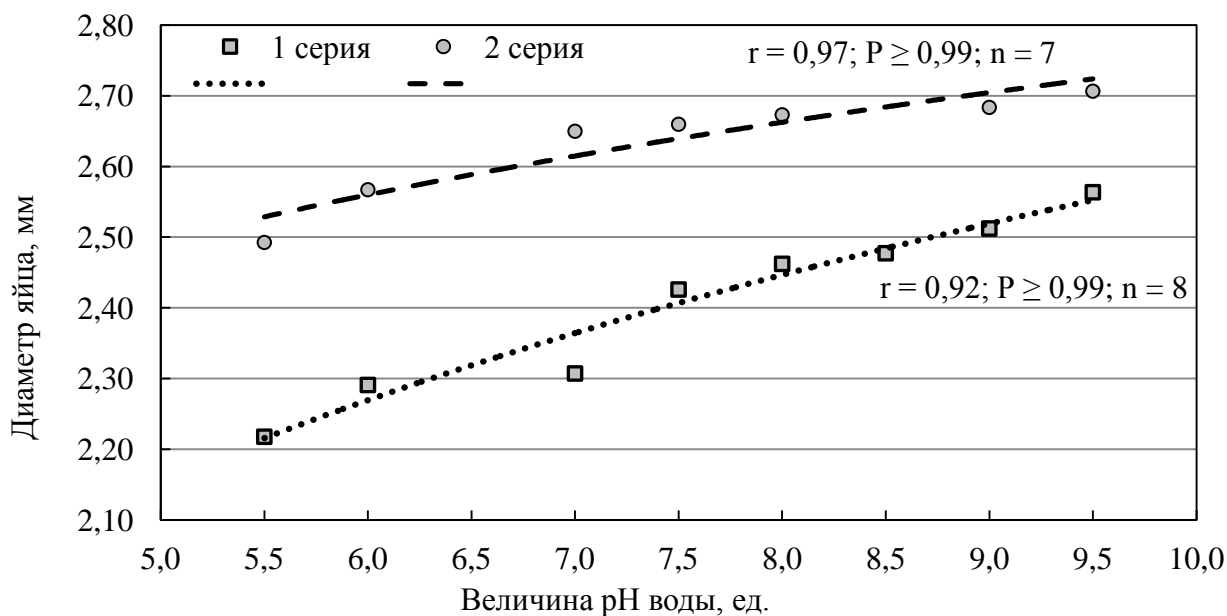


Рисунок 11 – Зависимость диаметра оводнённых яиц муксуна от активной реакции среды

Наиболее существенное изменение диаметра яиц от величины pH воды наблюдалось у чира. В среднем диаметр яиц чира в исследуемом диапазоне значений pH увеличился с $2,61 \pm 0,02$ до $3,34 \pm 0,04$ мм (рисунок 12). Как и следовало ожидать, при изменении диаметра яиц аналогично изменялась и их масса. Масса яиц чира в четвёртой серии в исследуемом диапазоне pH увеличилась в 1,5 раза с $11,49 \pm 0,19$ до $17,67 \pm 0,29$ мг (рисунок 13).

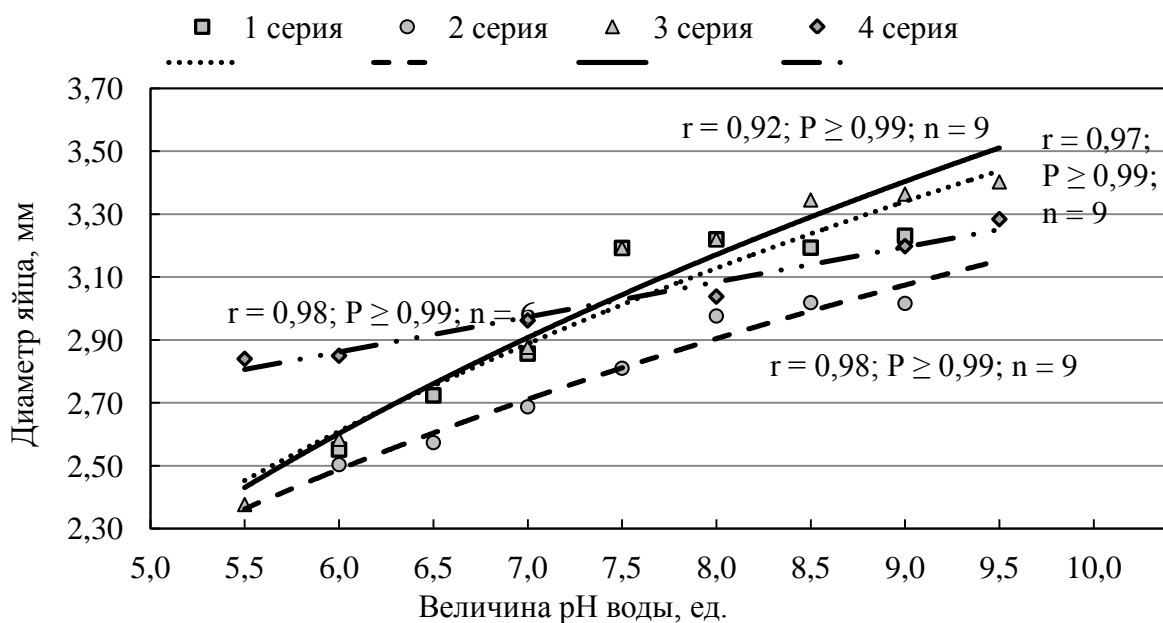


Рисунок 12 – Зависимость диаметра оводнённых яиц чира от величины pH ВОДЫ

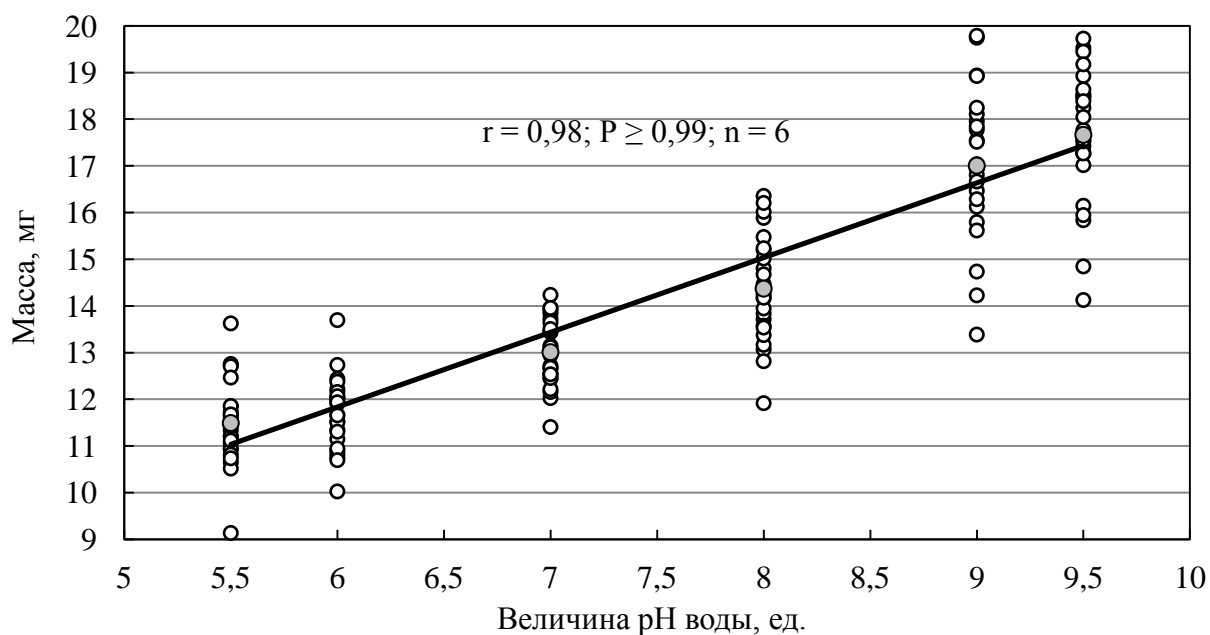


Рисунок 13 – Зависимость массы оводнённых яиц чира от величины рН воды

Величина рН воды, используемой для оводнения, влияла на диаметр и массу оводнённых яиц, но на размеры желтка влияния не оказывала ($r = -0,01$; $P < 0,95$; $n = 6$). Так, средний диаметр желтка яиц чира в четвёртой серии при значении рН воды 5,5 единиц составлял $2,05 \pm 0,02$ мм, а при 9,5 единиц – $2,01 \pm 0,02$ мм (рисунки 14 и 15). Таким образом, увеличение диаметра внешней оболочки яйца при смещении величины рН воды в щелочную сторону обусловлено возрастанием объёма перивителлинового пространства.

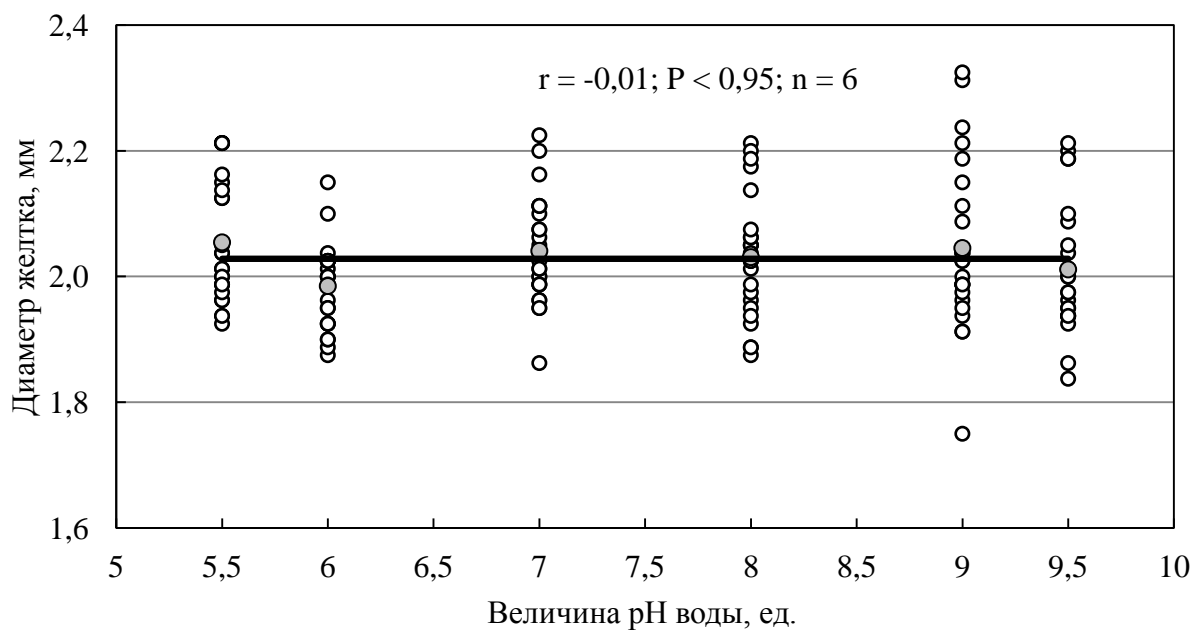
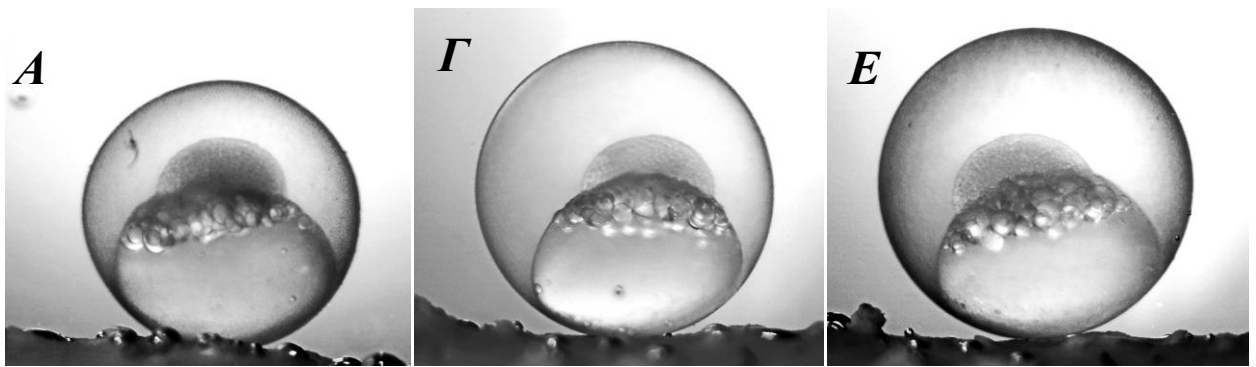


Рисунок 14 – Зависимость среднего диаметра желтка оводнённых яиц чира от величины рН воды



Значения pH: А – 5,5 ед.; Г – 7,5 ед.; Е – 9,5 ед.

Рисунок 15 – Яйца чира, оводнённые в воде при различных значениях pH

Для сравнения интенсивности влияния значения pH воды на размер яиц абсолютные значения диаметров яиц в опытах были переведены в относительные доли. В качестве 100% нами был принят диаметр яиц при pH = 7,0 единицам. Максимальная разница между относительными диаметрами в крайних точках исследуемого диапазона наблюдалась у чира и составляла в среднем 26%. Для яиц муксуна данная величина в среднем равнялась 12%, для тугуна, сига-пыжьяна, озёрной и речной пеляди – 5-7% (рисунок 16).

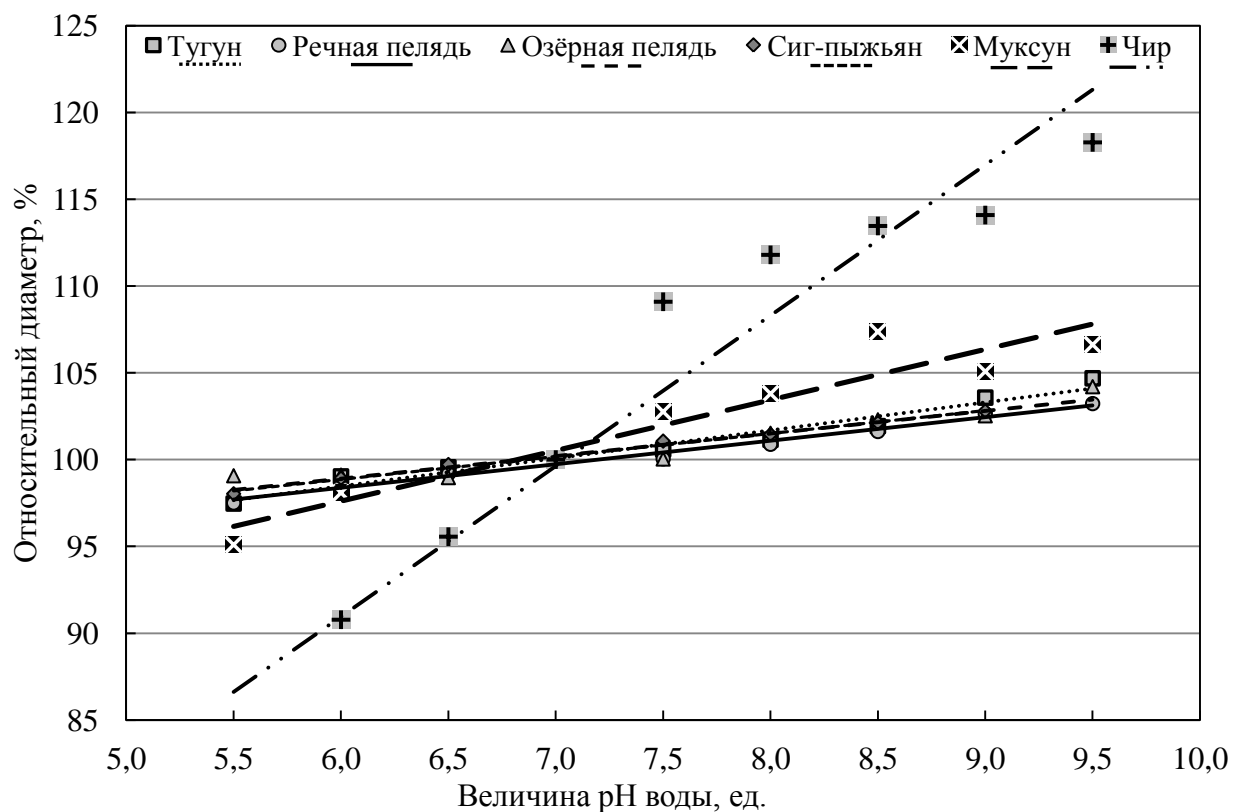


Рисунок 16 – Зависимость среднего относительного диаметра яиц сиговых от величины pH воды, используемой для оводнения

Между максимальной разницей относительного диаметра в интервале значений рН 5,5-9,5 единиц и средним диаметром яиц, оводнённых при нейтральном значении рН воды, каждого вида наблюдалась положительная корреляция на высоком уровне значимости ($r = 0,80$; $P \geq 0,99$; $n = 6$) (рисунок 17). Необходимо отметить, что данная корреляция обусловлена только крупными яйцами чира и муксуна. У видов с яйцами меньшего диаметра подобная зависимость отсутствовала. Так, средний диаметр яиц тугуна при величине рН 7,0 единиц составлял 1,90 мм, изменение относительного диаметра – 7%. У сига-пыжьяна яйца, оводнённые при нейтральной реакции среды, крупнее – 2,45 мм, но разница между относительными диаметрами меньше – 5%.

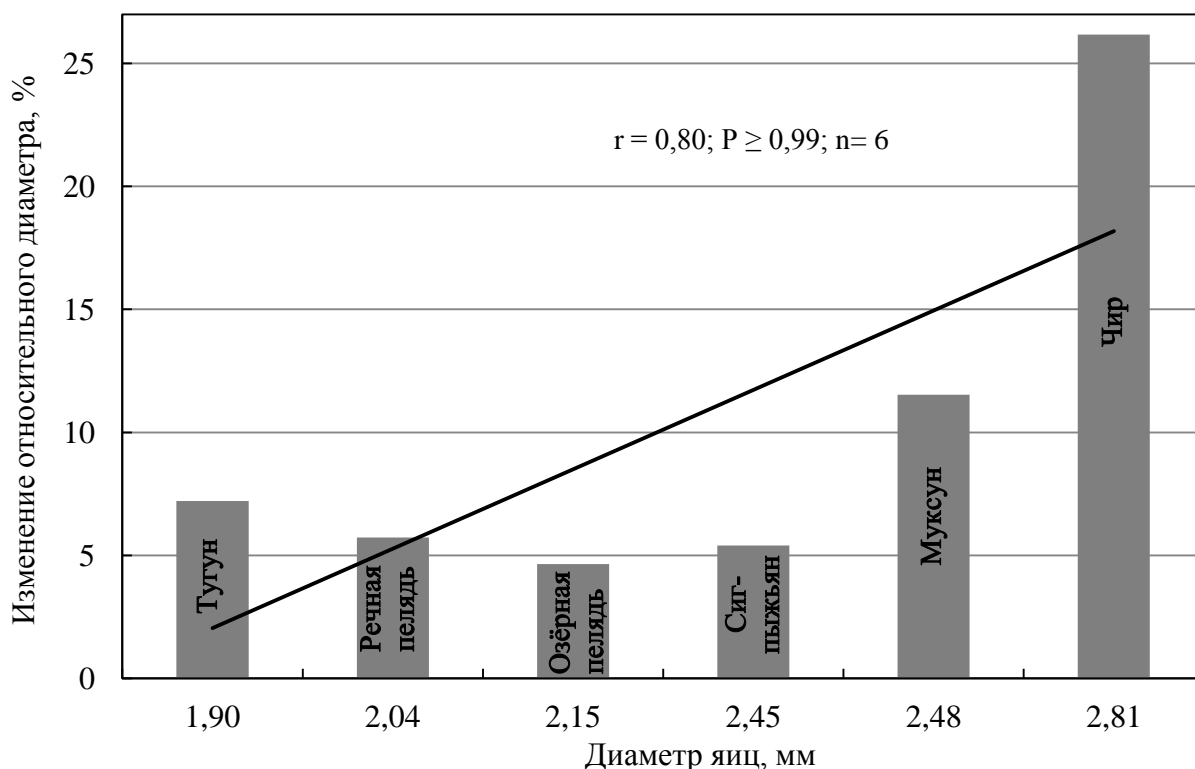


Рисунок 17 – Максимальная разница относительного диаметра и средний диаметр яиц
Диаметр оводнённых яиц указан для величины рН 7,0 единиц

При сборе ихтиологического материала возникает необходимость фиксировать яйца рыб для проведения измерений в лабораторных условиях. В связи с чем возникает вопрос: сохранится ли наблюдаемая зависимость после фиксированных яиц?

Изучение влияния фиксации на изменения диаметра яиц, оводнённых при различных значениях рН воды, проводилось только на яйцах чира. Яйца фиксировали 10%-ным раствором формалина [49] через сутки после начала оводнения. Измерение проводили через неделю после фиксации. В каждом опыте измерялось по 25-50 яиц, для анализа использовалось среднее значение диаметра.

Как и следовало ожидать, средний диаметр нефиксированных яиц чира увеличивался с изменением рН воды, используемой для оводнения, от 6,5 до 9,0 единиц с $3,08 \pm 0,02$ до $3,35 \pm 0,03$ мм. После фиксации характер зависимости оводнённых яиц чира от рН воды сохранился. Средний диаметр фиксированных яиц незначительно изменился в большую сторону в среднем на 0,04 мм или на 1,2% и находился в пределах от $3,09 \pm 0,02$ при 6,5 единиц до $3,44 \pm 0,02$ мм при 9,0 единицах (рисунок 18).

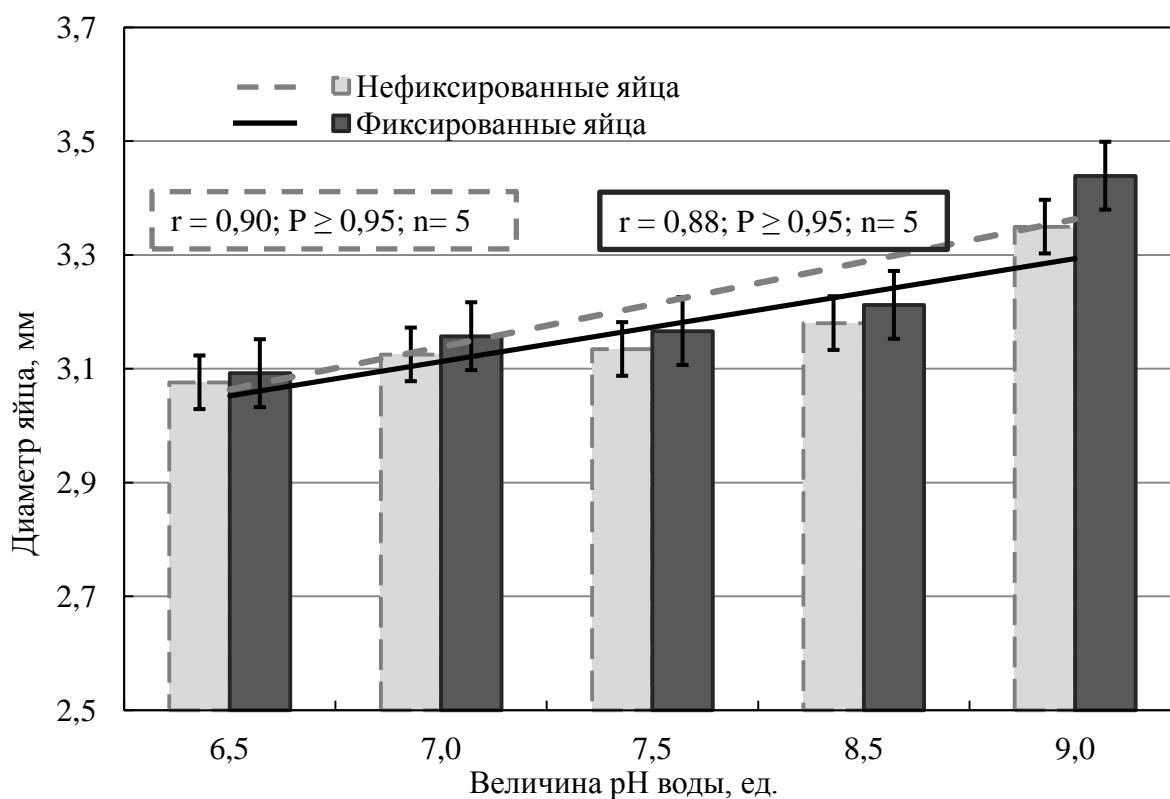


Рисунок 18 – Диаметр оводнённых яиц чира до и после фиксации 10%-ным формалином в зависимости от величины Н воды

Таким образом, выявлен ещё один фактор, оказывающий существенное влияние на диаметр яиц сиговых рыб. Обнаружена прямая зависимость

между диаметром оводнённых яиц и значением величины рН воды, используемой для оводнения.

При указании размеров яиц необходимо указывать и рН воды при котором проходило оводнение. При сборе икры на нерестилищах или вблизи это не так актуально, потому что химический состав воды в данных местах достаточно стабилен и значение рН воды близко к нейтральному, либо чуть закислено. Однако, в настоящее время создание маточных стад сиговых рыб и сбор икры происходит в водоёмах и вне ареала. В этом случае, химический состав воды, используемой в технологическом процессе, существенно отличается, и в этих случаях необходимо учитывать значение рН воды.

2.1.4 Взаимосвязь диаметра яйца и размеров самок

Размер яиц рыб, являющихся объектом искусственного воспроизводства, – важный биотехнический показатель. В частности, от этой величины зависит количество икры, загружаемое в инкубационный аппарат. В природных популяциях сиговых рыб отмечаются ежегодные колебания средних размеров яиц. Соответственно, ежегодно изменяется плотность укладки яиц в инкубационных аппаратах [50]. Кроме того, высказываются мнения о связи выживаемости эмбрионов, продолжительности эмбриогенеза, роста личинок с размерами яйца [51, 52, 53].

Возникает вопрос о факторах, определяющих средний индивидуальный размер яйца. Обычно, диаметр яйца связывают с размером самок [54, 55, 56]. Получены данные, подтверждающие наличие прямой зависимости между диаметром яиц и размером самок сиговых рыб и форели, выращенных в промышленных условиях [57, 58]. Необходимо отметить, что данные исследования проводили на фиксированных неоводнённых яйцах. Аналогичная связь для сиговых рыб из естественных популяций не исследовалась.

Цель – оценка связи между размером самок из естественных популяций сиговых рыб Обь-Иртышского бассейна и средним индивидуальным диаметром оводнённого яйца.

Материалом служили оводнённые яйца тугуна, речной пеляди, сига-пыжьяна и чира. Исследования проводили в октябре-ноябре 2008 и 2009 гг. на рыбоводном пункте «Рахтынья». Для исследования отбирали по 2-3 самки из каждого размерного класса с шагом 1 см. Яйца получали отцеживанием «текучих» самок после выдерживания в садках. Измерения яиц проводили по окончании оводнения через 8-10 часов при температуре 1-3°C по оригинальной методике. Данный интервал времени достаточен для полного завершения оводнения [47]. Измерение диаметра каждой пробы яиц проводили дважды. В расчётах использовали средний результат. Оплодотворение яиц в опытах не проводилось (см. главу 2.1.3). Всего была оценена взаимосвязь промысловой длины и диаметра оводнённых яиц у 23 самок тугуна, 80 самок речной пеляди, 37 самок сига-пыжьяна, 54 самок чира.

Тугун. Средняя промысловая длина исследованных самок тугуна в 2008 и 2009 гг. составляла $11,0 \pm 0,4$ и $12,2 \pm 0,5$ см соответственно (таблица 4). Средний диаметр оводнённых яиц в 2008 г. равнялся $1,79 \pm 0,01$ мм, в 2009 г. данный показатель был незначительно больше – $1,81 \pm 0,02$ мм (таблица 5). В 2008 г. между средним диаметром яиц и промысловой длиной самок у тугуна наблюдалась недостоверная слабая отрицательная корреляция ($r = -0,20$; $P < 0,95$). В 2009 г. между изучаемыми показателями связь была положительная и статистически достоверная ($r = 0,52$; $P \geq 0,95$) (таблица 6, рисунок 19). Возможно, существенные различия в значении коэффициента корреляции связаны с малочисленными выборками.

Речная пелядь. Промысловая длина исследованных самок речной пеляди в 2008 и 2009 гг. составляла $31,7 \pm 0,5$ и $31,9 \pm 0,5$ см соответственно (таблица 4). Значения среднего диаметра оводнённых яиц в 2008 и 2009 гг. также были близки – $1,98 \pm 0,01$ и $2,01 \pm 0,01$ мм соответственно (таблица 5). Зависимость среднего диаметра яиц от промысловой длины самок в оба года исследований была статистически недостоверна и слабо отрицательна ($r = -0,19$; $P < 0,95$) (таблица 6, рисунок 19).

Таблица 4 – Промысловая длина самок сиговых рыб Обь-Иртышского бассейна

Вид	2008 г.						2009 г.					
	n, экз.	Длина самок, см			±σ	CV, %	n, экз.	Длина самок, см			±σ	CV, %
		min	max	Хср. ± m _x				min	max	Хср. ± m _x		
Тугун	9	9,8	12,7	11,0±0,4	1,0	9	14	9,9	16,1	12,2±0,5	1,7	14
Речная пелядь	37	26,7	37,0	31,7±0,5	2,9	9	43	26,5	40,2	31,9±0,5	3,5	11
Сиг-пыжьян	10	25,9	34,1	29,8±1,0	2,9	10	27	24,2	36,0	28,6±0,6	3,0	11
Чир	20	34,2	48,0	40,7±0,9	4,1	10	34	36,2	46,3	40,5±0,4	2,3	5

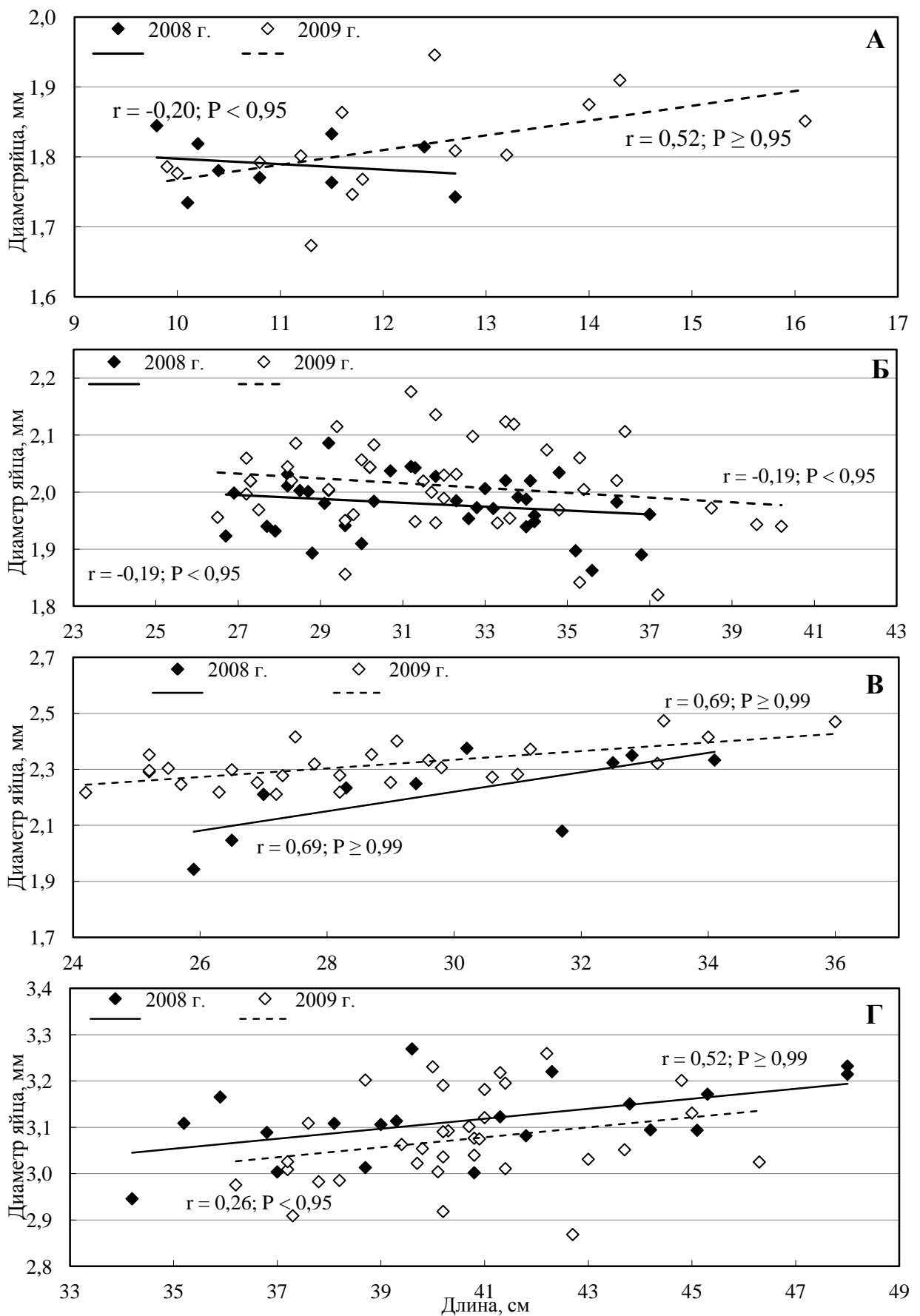
Таблица 5 – Диаметр оводнённых яиц сиговых рыб Обь-Иртышского бассейна

Вид	2008 г.						2009 г.					
	n, экз.	Диаметр яйца, мм			±σ	CV, %	n, экз.	Диаметр яйца, мм			±σ	CV, %
		min	max	Хср. ± m _x				min	max	Хср. ± m _x		
Тугун	9	1,73	1,84	1,79±0,01	0,04	2,23	14	1,67	1,95	1,81±0,02	0,07	3,85
Речная пелядь	37	1,86	2,09	1,98±0,01	0,05	2,60	43	1,82	2,18	2,01±0,01	0,08	3,83
Сиг-пыжьян	10	1,94	2,38	2,21±0,05	0,15	6,59	27	2,21	2,47	2,31±0,01	0,07	3,19
Чир	20	2,95	3,27	3,12±0,02	0,08	2,68	34	2,87	3,26	3,07±0,02	0,10	3,13

Таблица 6 – Результаты корреляционного анализа связи между средним диаметром яиц и промысловой длиной сиговых рыб

Вид	2008 г.				2009 г.			
	n, экз.	r	t _ф	P	n, экз.	r	t _ф	P
Тугун	9	-0,20	0,54	0,411	14	0,52	2,12	0,966
Речная пелядь	37	-0,19	1,17	0,768	43	-0,19	1,25	0,789
Сиг-пыжьян	10	0,69	2,67	0,992	27	0,63	4,07	0,999
Чир	20	0,52	2,61	0,991	34	0,26	1,47	0,858

Примечание: курсивом выделены статистически достоверные корреляционные связи, удовлетворяющие условию, что P≥0,95



А – тугун; Б – речная пелядь, В – сиг-пыжьян; Г – чир
 Рисунок 19 – Зависимость среднего индивидуального диаметра оводнённого яйца от промысловой длины тела сиговых рыб р. Ляпина

Речная пелядь. Промысловая длина исследованных самок речной пеляди в 2008 и 2009 гг. составляла $31,7 \pm 0,5$ и $31,9 \pm 0,5$ см соответственно (таблица 4). Значения среднего диаметра оводнённых яиц в 2008 и 2009 гг. также были близки – $1,98 \pm 0,01$ и $2,01 \pm 0,01$ мм соответственно (таблица 5). Зависимость среднего диаметра яиц от промысловой длины самок в оба года исследований была статистически недостоверна и слабо отрицательна ($r = -0,19$; $P < 0,95$) (таблица 6, рисунок 19).

Сига-пыжьян. Средние значения промысловой длины самок и диаметра оводнённых яиц сига-пыжьяна в 2008 г. составляли $29,8 \pm 1,0$ см и $2,21 \pm 0,05$ мм соответственно (таблицы 4 и 5). В 2009 г. по сравнению с предыдущим годом средняя длина самок была незначительно меньше, а средний диаметр оводнённых яиц больше – $28,6 \pm 0,6$ см и $2,31 \pm 0,01$ мм соответственно. В оба года исследований наблюдалась прямая статистически достоверная корреляция между длиной самок и диаметром яиц (таблица 6, рисунок 19).

Чир. Средняя промысловая длина самок чира в исследуемые годы отличалась незначительно и составляла в 2008 г. $40,7 \pm 0,9$ см, в 2009 г. – $40,5 \pm 0,4$ см (таблица 4). Средний диаметр оводнённых яиц в 2008 г. равнялся $3,12 \pm 0,02$ мм, в 2009 г. – $3,07 \pm 0,02$ мм (таблица 5). В 2008 г. между диаметром оводнённых яиц и длиной самок наблюдалась статистически достоверная и положительная корреляция. В 2009 г. зависимость между изучаемыми показателями была слабоположительной и статистически недостоверной (таблица 6, рисунок 19).

Как и следовало ожидать, между средними величинами диаметра яйца и промысловой длины самок каждого вида в оба года исследований наблюдалась статистически достоверная положительная корреляция ($r = 0,82$; $P \geq 0,99$; $n = 8$; рисунок 20). Так, диаметр яиц «мелких» самок тугуна был в 1,7 раз меньше диаметра яиц «крупных» самок чира. Диаметр яиц сига-пыжьяна и речной пеляди занимал промежуточное значение. Тем не менее, самки сига-пыжьяна, уступающие в длине самкам речной пеляди, яйца про-

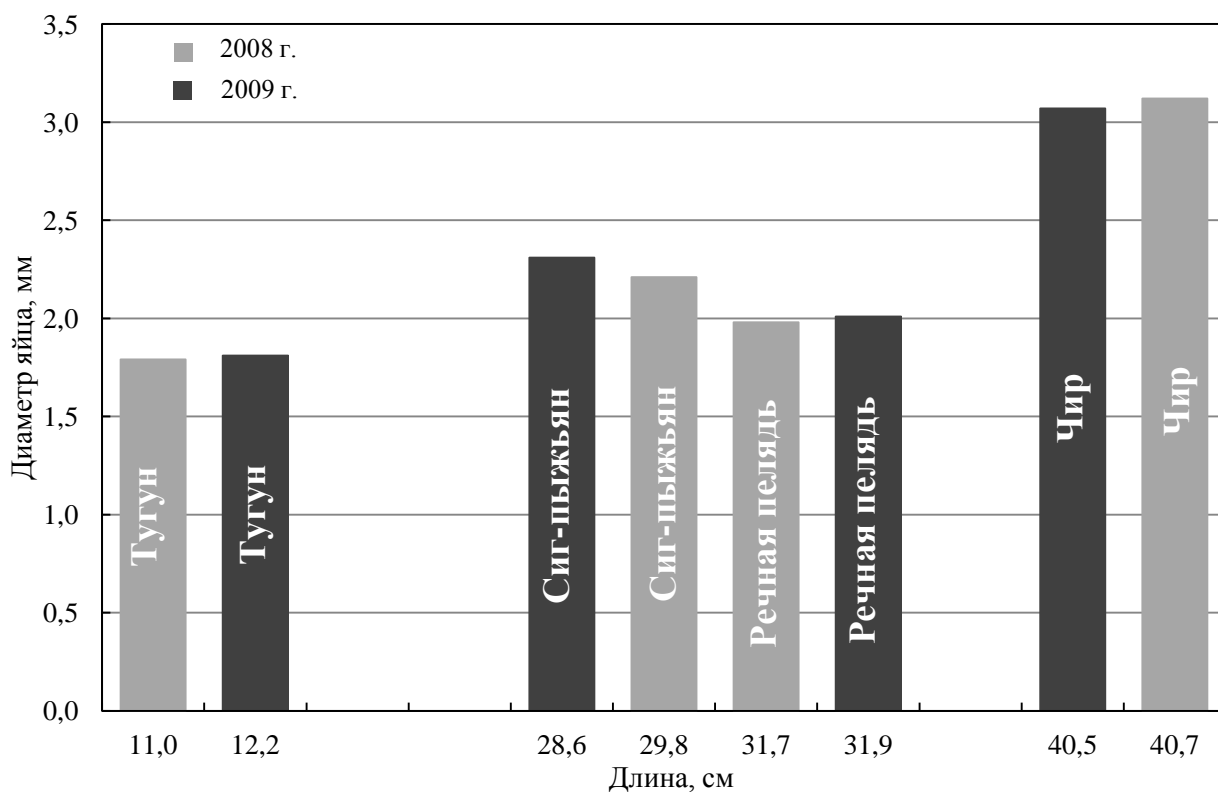


Рисунок 20 – Средний диаметр яиц и средняя промысловая длина самок сиговых рыб, 2008 и 2009 гг.

В целом, можно отметить, что для самок, выращенных в индустриальных условиях по литературным данным связь между диаметром яиц и длиной рыб более тесная [59, 60]. В частности, для пятилетних самок чира коэффициент корреляции между длиной тела и диаметром яиц равен 0,45 [57]. У радужной форели разных возрастов коэффициент корреляции составляет от 0,31 до 0,52 [58]. М.А. Андрияшева [61, 62] указывает на отсутствие связи между диаметром овулировавших яиц и размерно-массовыми показателями впервые нерестящихся производителей ендырьской пеляди, выращенных на ЦЭС ГосНИОРХ «Ропша». Но, для старших возрастных групп автор отмечает достоверную прямую корреляцию ($r = 0,27- 0,47$).

Ряд авторов указывает на прямую зависимость диаметра яиц не только от размера самки, но и от массы тела. Такие зависимости были получены для форели, пеляди, чира и чудского сига выращенных в индустриальных условиях [57, 58, 63]. По нашим данным, в 2009 г. у самок чира из естественных популяций статистически достоверной связи между массой тела и диаметром яиц также не было обнаружено ($r = 0,18$; $P < 0,95$; $n = 34$).

На основе полученных данных можно сделать вывод, что в естественных популяциях размер самки является одним из комплекса факторов, влияющих на размер яиц генерации конкретного года. В ряде случаев этот фактор не является определяющим. Можно предположить, что существенное влияние на размер яиц оказывают условия нагула рыб в течение вегетационного сезона, предшествующего нересту. При индустриальном выращивании рыб внешние условия более стабильны. В частности, обеспеченность кормом в разные годы существенно не меняется. Поэтому связь размера самок сиговых, выращенных, например, в садках, с диаметром яиц более выражена.

2.1.5 Динамика перехода гонад самок речной пеляди на V стадию зрелости

Созревание гонад самок сиговых рыб в течение нерестового периода происходит постепенно на фоне понижающейся температуры [64, 65]. Для прогнозирования сроков проведения рыбоводных работ актуально оценить динамику созревания гонад самок в течение нерестового периода.

Цель – выявление факторов, влияющих на динамику созревания гонад самок в течение нерестового периода.

Исследования проводили на рыбоводном пункте «Рахтынья» в октябре 2010, 2011, 2013 и 2014 гг. Материалом для исследования служили самки речной пеляди, используемые для сбора икры ручным методом. После отлова, выдерживание самок проводили в отдельных садках без самцов. Ежедневно для оценки количества самок с гонадами, перешедшими на V стадию зрелости, проводили сортировку рыбы. Самок с созревшими половыми продуктами использовали для сбора икры, особей с незрелыми гонадами возвращали обратно в садок. Отсортированные для сбора икры самки учитывались как особи, с созревшими половыми продуктами к определённой дате. Гибель самок во время и после сортировки не превышала за весь сезон сбора икры 3-4%, поэтому данную величину не учитывали. Измерение температуры воды проводили ежедневно в месте постановки садков.

В исследуемые годы динамика перехода гонад самок речной пеляди на V стадию зрелости была сходна, незначительное смещение сроков наблюдалось только в 2014 г. В частности, единичное появление самок с созревшими гонадами в 2010, 2011 и 2013 гг. отмечалось 9-10 октября, в 2014 г. – 5 октября. Созревание гонад у половины отсаженных особей происходило 16-18 октября, в 2014 г. – 14 октября. Созревание яиц у всех самок завершалось в период с 24 октября в 2010 г. до 28 октября в 2011 г. (рисунок 21). Продолжительность периода созревания гонад составляла от 14 до 20 дней.

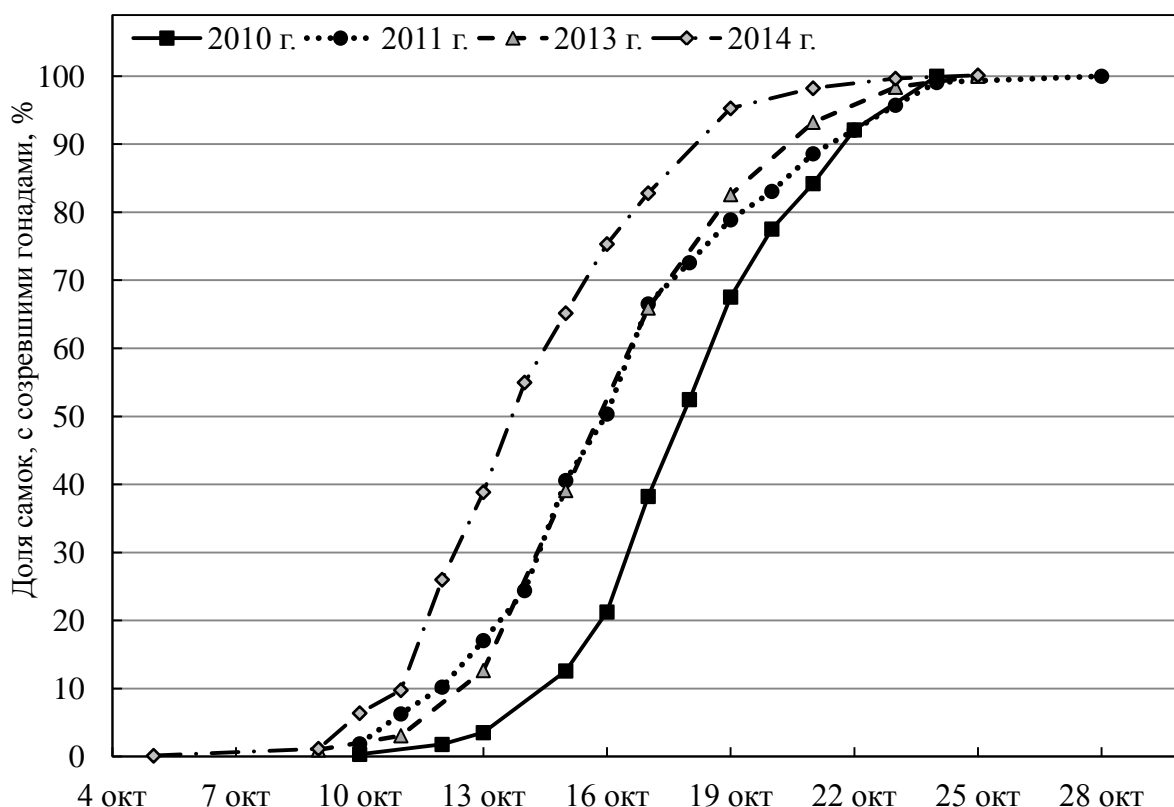


Рисунок 21 – Динамика созревания гонад самок речной пеляди на рыбноводном пункте «Рахтынья», 2010, 2011, 2013, 2014 гг.

Температура воды в нерестовый период на рыбноводном пункте в исследуемые годы различалась (рисунок 22). В 2010 г. среднее значение температуры в октябре составляло 3,9°C. В следующем 2011 г. средняя температура воды равнялась 4,8°C и значительно превышала средние значения в другие исследованные года. Средняя температура в 2013 и 2014 гг. составляла 2,4 и 3,3°C соответственно (рисунок 21). Однако, связи между температурой и сро-

ками созревания гонад самок не наблюдалось. Так, температурные режимы в октябре 2011 и 2013 гг. существенно отличались, однако кривые созревания гонад самок практически совпали. Значения средних температур в 2010 и 2014 гг. были близки, тем не менее, в 2014 г. созревание гонад самок происходило на 4-5 дней раньше, чем в 2010 г.

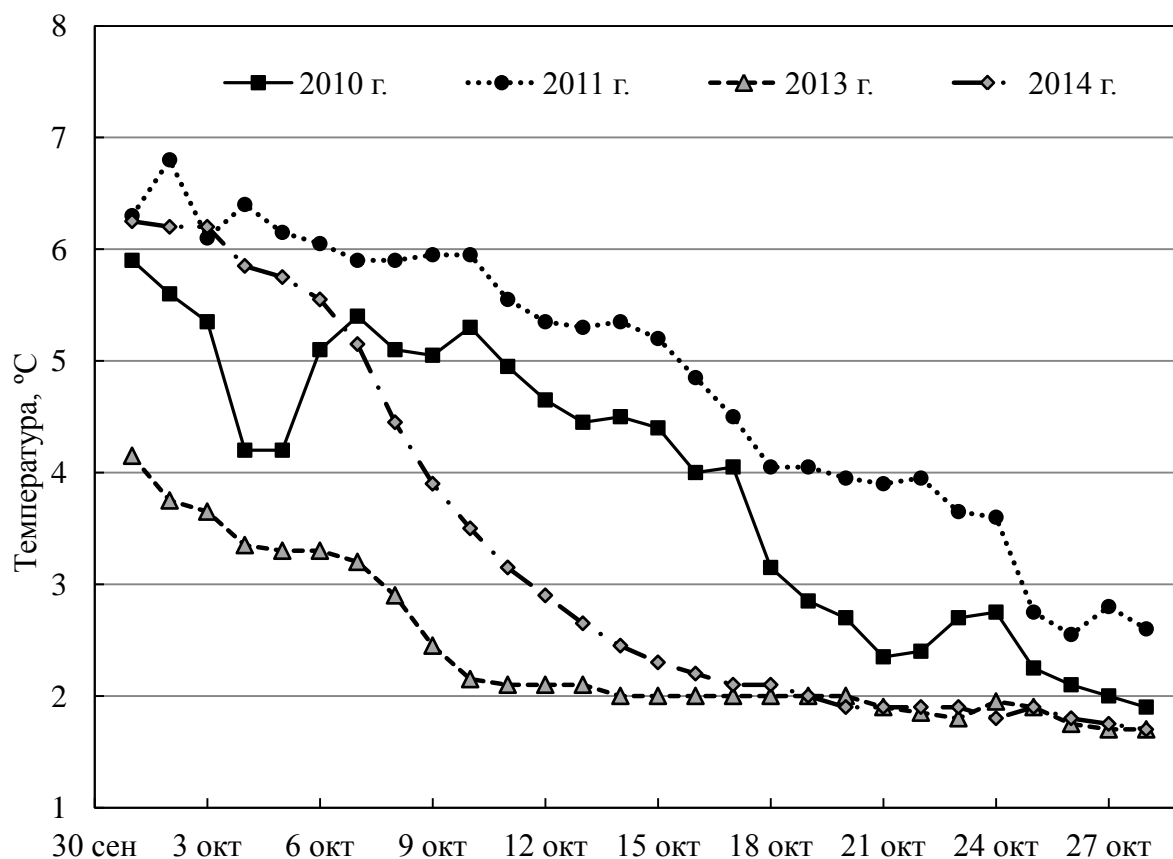


Рисунок 22 – Температура воды в старице «Рахтынья» в нерестовый период речной пеляди, 2010, 2011, 2013 и 2014 гг.

Можно предположить, что важным фактором является не только значение температуры, но также и скорость изменения этого показателя. В 2010 г. температура воды снижалась со скоростью $0,15^{\circ}\text{C}/\text{сут}$, в 2011 г. – $0,14^{\circ}\text{C}/\text{сут}$, в 2013 и 2014 гг. – $0,09$ и $0,17^{\circ}\text{C}/\text{сут}$ соответственно. Скорость снижения температуры статистически не достоверно оказывала влияние на сроки созревания гонад самок ($r = 0,16-0,50$; $P < 0,95$; $n = 4$) и на продолжительность периода ($r = -0,43$; $P < 0,95$; $n = 4$). При увеличении скорости снижения температуры сроки созревания гонад самок смещались к началу месяца, а продолжительность периода созревания гонад увеличивалась.

Таким образом, очевидно, температура является не единственным фактором, определяющим сроки созревания гонад самок. В частности, рядом авторов экспериментальным путём доказано влияние фотопериода на время созревания гонад лососевых [66, 67, 68] и окунёвых [69, 70, 71] рыб. В.З. Крупкин [72] указывает на созревание гонад обского муксуна в водоёмах Северо-Запада России в первой половине ноября, как и в Оби, но при температуре значительно превышающей нерестовые значения (2,9-4,4°C). Аналогичное явление отмечал А.Н. Кузьмин [11] у самок чира, выращенных в прудах Центральной экспериментальной станции ГосНИОРХ «Ропша». Гонады самок созревали при температуре 2,5-3,0°C в первой-второй декадах ноября, тогда как в Оби нерест происходит при температуре близкой к 0°C [65].

2.1.6 Влияние размеров самок на сроки созревания половых продуктов

Как правило, нерестовые стада сиговых рыб отличаются значительной индивидуальной вариабельностью. В частности, у обских популяций такие биологические показатели, как длина, масса, возраст, плодовитость у отдельных самок различаются в 1,5 – 5,0 раз [64, 65]. Общая продолжительность нерестового периода речных популяции обычно составляет две-три недели. Перечисленные биологические характеристики тесно связаны с размерами рыб. Учитывая значительное качественное разнообразие производителей в нерестовом стаде, закономерно возникает вопрос: как меняются средние размеры самок на момент созревания гонад в течение нерестового периода? Этот вопрос можно перефразировать – существует ли связь между размерами самок и сроком созревания их половых продуктов в течение одного нерестового периода?

Цель – оценить взаимосвязь размеров самок со сроком созревания гонад в течение нерестового периода.

Наблюдения проводили на рыбоводном пункте «Рахтынья» в 2011, 2013 и 2014 гг. Материалом служили самки речной пеляди и сига-пыжьяна, используемые для сбора икры ручным методом. Для отбора самок с созревшими

ми половыми продуктами ежедневно проводилась их сортировка (см. главу 2.1.5). Отобранных самок использовали для ручного сбора икры. После каждого сбора икры определяли промысловую длину использованных самок. Объём отдельной выборки в период массового сбора икры состоял из 140-160 экз. Если общее количество самок не превышало 200 экз., то измеряли всех особей. В дальнейших расчётах использовали значение средневзвешенной промысловой длины на каждую дату сбора икры. Всего измерено самок речной пеляди в 2011 г. 1087 экз., в 2013 г. – 869 экз., в 2014 г. – 1483 экз. Измерение самок сига-пыжьяна проводили только в 2014 г. в количестве 810 экз.

По нашим данным, во все годы исследований между длиной самок, как пеляди, так и сига-пыжьяна, и сроком созревания их гонад выявлена прямая статистически достоверная корреляция (рисунок 23). В частности, в 2011 г. длина самок в начале периода сбора икры 12 октября составляла 28,5 см, в конце периода 25 октября длина самок увеличилась до 29,5 см. При этом, коэффициент корреляции между длиной самок с созревшими гонадами и датой составлял 0,84 ($n=12$) при высоком уровне достоверности $P \geq 0,99$. В 2013 г. за период сбора икры с 9 по 23 октября длина самок с созревшими гонадами увеличилась с 27,7 до 28,4 см. Зависимость даты созревания гонад от длины самок была положительной при коэффициенте корреляции 0,67 ($n=8$) и уровне достоверности $P \geq 0,95$. В 2014 г. с 9 по 23 октября длина самок с созревшими половыми продуктами увеличилась с 28,1 до 29,8 см. Коэффициент корреляции между длиной самок и сроком созревания равнялся 0,88 ($n=12$) при $P \geq 0,99$. Вероятно, из-за меньшего количества наблюдений в 2013 г. исследуемая зависимость была выражена менее ярко и при меньшем уровне значимости по сравнению с 2011 и 2014 гг.

Длина самок сига-пыжьяна с созревшими гонадами в период сбора икры с 7 по 23 октября увеличилась с 28,9 до 30,7 см (рисунок 24). Как и у речной пеляди, между длиной самок и датой созревания наблюдалась статистически прямая достоверная зависимость ($r = 0,73$; $P \geq 0,99$; $n= 9$).

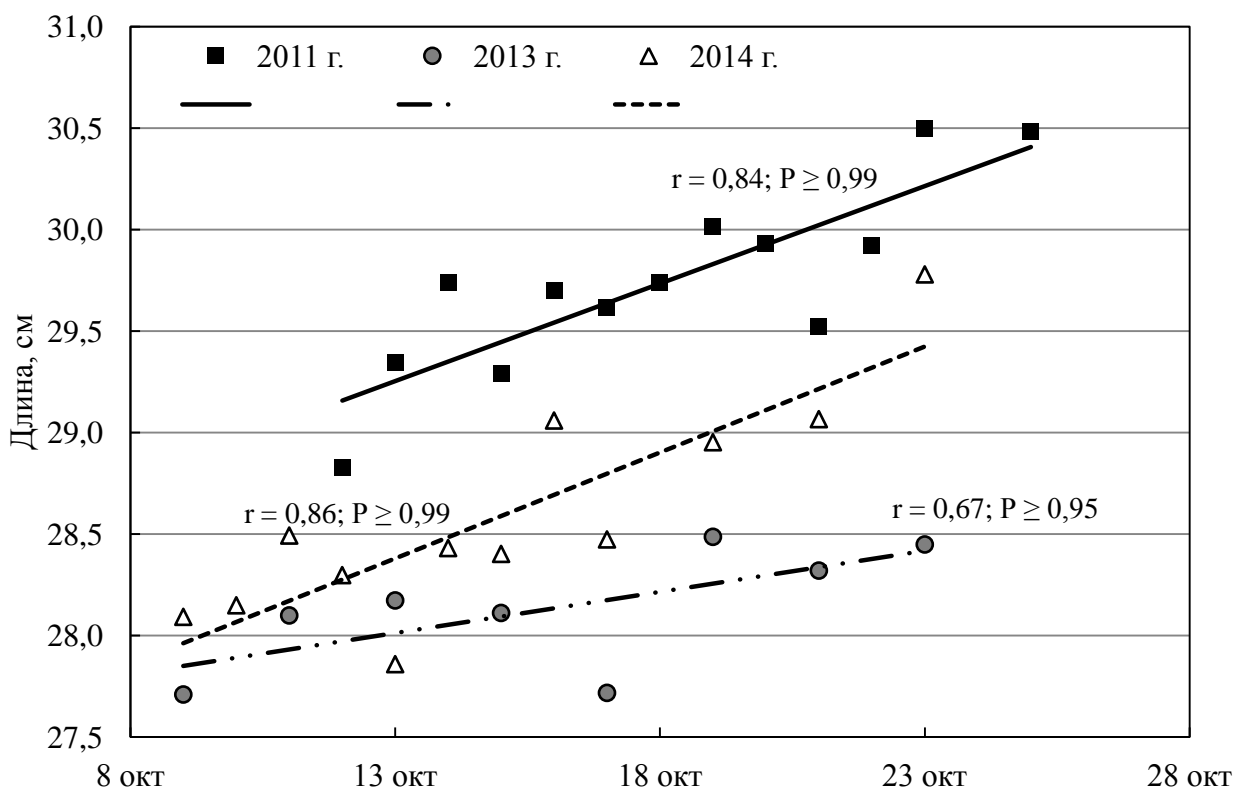


Рисунок 23 – Средняя промысловая длина самок речной пеляди на момент созревания гонад в 2011, 2013 и 2014 гг.

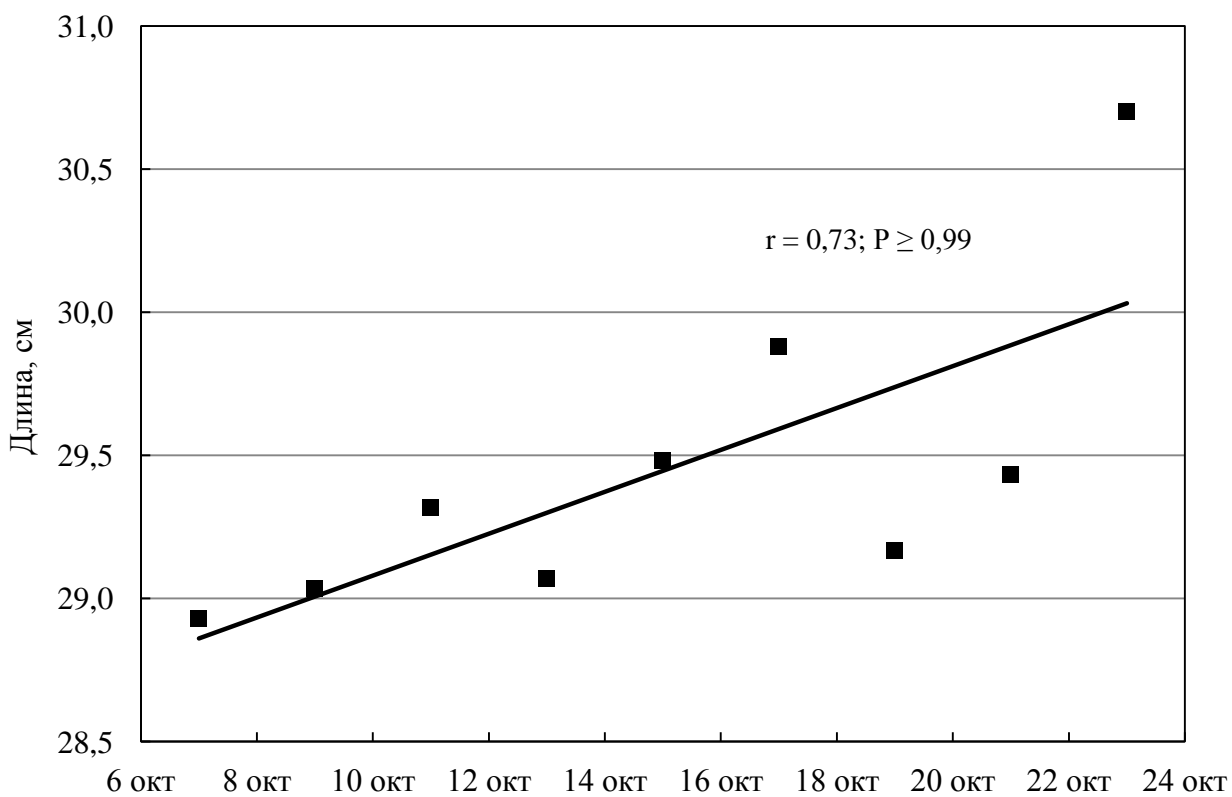


Рисунок 24 – Средняя промысловая длина самок сига-пыжьяна на момент созревания гонад в 2014 г.

Таким образом, между размерами самок двух исследованных видов сиговых рыб и моментом созревания их половых продуктов существует взаимосвязь. Вероятность созревания гонад у относительно мелких самок выше в начале нерестового периода, а у крупных самок – в его конце.

Возможно, выявленная закономерность не носит общего характера даже для сиговых рыб. Так, В.А. Коган [73] указывает, что для морских рыб характерно обратное явление: у крупных самок отмечено икротетание а, следовательно, и созревание их половых продуктов, раньше, чем у мелких. Уменьшение размеров самок с созревающими гонадами к концу нерестового периода также отмечается у белого амура [74], форели [75] и озёрной пеляди [76], выращенных в искусственных условиях. Не исключено, что на полученные результаты оказывают влияние возможные различия в реакции на процесс выдерживания в садках крупных и мелких производителей.

2.2 Рыбоводно-биологическая характеристика самцов и спермы

Изучением воспроизводительной системы самцов рыб сиговых занимался ряд авторов [10, 12, 13, 14, 77, 78, 79, 80]. Но, практически все исследования проводились на селекционно-племенных стадах сиговых рыб, акклиматизированных в европейской части России.

Сроки созревания самцов, длительность периода продуцирования спермы, динамика количества и качества спермы – важные биотехнические характеристики репродуктивной функции самцов, влияющие на эффективность искусственного воспроизводства рыб.

2.2.1 Характеристика самцов

Основные рыбоводно-биологические характеристики самцов из нерестовых стад р. Ляпина представлены за период с 2008 по 2011 годы.

Тугун. За период наблюдения основную долю самцов составляли двухлетние особи, в отдельные годы – трёхлетние. В 2008 г. 56% самцов в уловах представляли трёхлетние особи, двухлетние – 44%. В 2009-2011 гг. основную

часть (88-97%) самцов в уловах составляли двухлетние особи. Средняя промысловая длина самцов в исследуемые годы находилась в пределах от 10,3 до 10,9 см, средняя масса – от 12,8 до 15,1 см.

Речная пелядь. За период наблюдений в нерестовом стаде речной пеляди встречались самцы в возрасте от 4+ до 9+. Основную долю составляли шести-семилетние особи на которых приходилось ежегодно от 31 до 37% от общего количества выловленных самцов. Средняя промысловая длина самцов была в пределах от 29,8 до 30,8 см, средняя масса – в интервале от 387 до 460 г (таблица 7).

Сиг-пыжьян. За период наблюдений в нерестовом стаде сига-пыжьяна встречались самцы в возрасте от 4+ до 11+ лет. В 2010 и 2011 гг. основную долю в уловах 28-44% составляли особи в возрасте 6+ лет, в 2009 г. – особи в возрасте 7+ при встречаемости 43%. Средняя промысловая длина самцов колебалась от 27,5 до 29,2 см, средняя масса – от 277 до 333 г (таблица 7).

Чир. Основную долю нерестового стада чира за период наблюдений составляли особи в возрасте от 6+ до 11+ лет. Во все исследуемые годы основную долю в уловах 36-50% составляли восьмилетние особи. Средняя промысловая длина самцов чира была в пределах от 40,4 до 41,4 см, средняя масса колебалась от 1051 до 1330 г (таблица 7).

Сибирская ряпушка. В уловах встречались самцы в возрасте от 4 +до 5+ лет. Промысловая длина рыб находилась в интервале от 21,2 до 24,7 см, при среднем значении 23,4 см. Масса самцов колебалась от 113 до 191 г, при среднем значении 162 г.

На экспериментальном садковом хозяйстве «Волковское» содержатся маточные стада тугуна, речной и озёрной пеляди, муксуна и чира. Возраст самцов тугуна за период сбора материала составлял 1+ и 2+. Средняя промысловая длина самцов тугуна находилась в пределах от 10,1 до 15,4 см, масса – от 14,7 до 21,8 г.

Таблица 7 – Основные рыбоводно-биологические показатели самцов рыб из нерестового стада р. Ляпин, 2008-2011 гг.

Показатели	Годы											
	2008			2009			2010			2011		
	Min	Max	Ср.знач.	Min	Max	Ср.знач.	Min	Max	Ср.знач.	Min	Max	Ср.знач.
Тугун												
Возраст, годы	1+	3+	1,6	1+	2+	1,1	1+	3+	1,1	1+	2+	1,0
Промысловая длина, см	10,3	14,3	10,8	10,1	12,8	10,3	10,7	15,3	10,9	10,8	13,1	10,9
Масса тела, г	11,9	15,8	14,1	12,1	22,9	12,8	13,9	38,7	15,1	14,3	25,1	14,5
Речная пелядь												
Возраст, годы	4+	9+	6,3	4+	9+	6,2	4+	9+	6,6	4+	8+	6,5
Промысловая длина, см	26,9	34,2	29,4	25,7	32,3	28,4	26,3	31,7	29,5	27,2	30,4	28,6
Масса тела, г	258,3	600,4	356,4	231,1	465,8	320,0	245,2	488,7	377,7	274,5	393,7	321,7
Сиг-пыжьян												
Возраст, годы	-	-	-	5+	9+	6,7	4+	9+	6,5	5+	11+	7,0
Промысловая длина, см	26,2	35,1	27,5	25,3	31,6	27,6	23,0	33,8	29,2	26,4	36,5	28,6
Масса тела, г	224,0	543,1	229,5	207,4	422,7	277,1	139,1	510,0	332,7	229,8	696,9	305,1
Чир												
Возраст, годы	6+	11+	7,4	6+	9+	7,8	-	-	-	6+	11+	8,4
Промысловая длина, см	41,0	44,5	40,8	36,5	43,8	41,4	37,5	45,2	40,4	38,2	44,2	41,4
Масса тела, г	1052,3	1366,5	1051,4	727,2	1311,7	1100,9	820,0	1527,0	1035,1	815,4	1330,0	1099,7

Возраст самцов речной пеляди находился в диапазоне от 3+ до 5+, средняя промысловая длина – от 25,9 до 29,4 см, масса – от 183 до 401 г. Возраст самцов озёрной пеляди был в пределах от 2+ до 5+. Средняя промысловая длина самцов озёрной пеляди составляла от 26,1 до 32,9 см, масса – от 231 до 714 г. Возраст самцов муксуна был в пределах от 3+ до 5+, средняя промысловая длина – от 42,1 до 45,4 см, масса – от 1500 до 2123 г. Возраст самцов чира был в пределах от 3+ до 5+, средняя промысловая длина – от 42,1 до 44,5 см, масса – от 1324 до 1840 г.

2.2.2 Характеристика спермиев

Спермии сиговых относятся к жгутиконосным спермиям примитивного типа и состоят из головки, средней части и хвоста [77, 81] (рисунок 25). Видоспецифические отличия спермиев сиговых нами не были обнаружены. Размер головки спермия чира составляет 3,3-3,7 μm , хвоста – 28-33 μm . По данным Rotheli [82], размер головки спермия *C. lavaretus* равен 3,2-3,5 μm . При этом, размер головки спермиев большинства рыб находится в интервале 2-4 μm [83, 84, 85, 86].

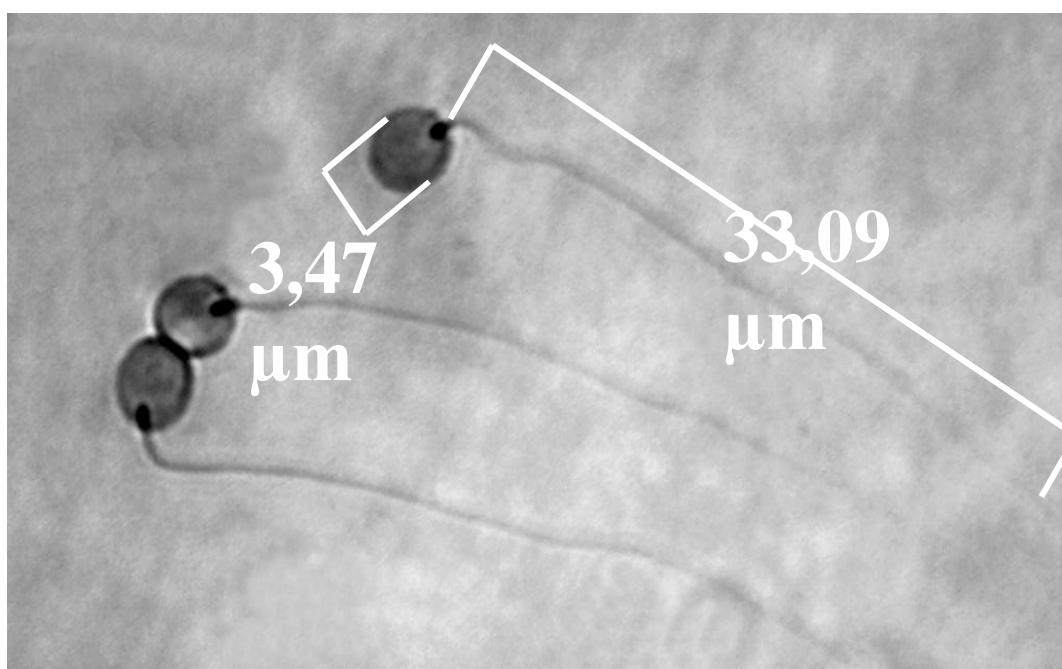


Рисунок 25 – Фотография спермиев чира, 1000-кратное увеличение

2.2.3 Динамика объёма эякулята в течение нерестового периода

Продуцирование спермы у сиговых рыб в течение нерестового периода происходит порционно, как и у других костистых рыб [77]. Самцы сиговых созревают раньше, чем самки [77, 87], а продуцирование спермы продолжается некоторое время после окончания массового нереста. Кроме того, количество продуцируемой спермы меняется в течение нерестового периода [77, 87, 88, 89, 90]. Информацию о сроках созревания гонад и о динамике продуцирования спермы необходимо учитывать при проведении рыбоводных работ, в частности, при промышленной гибридизации, так как нерестовые периоды разных видов могут полностью или частично не совпадать. Наиболее ярко это обстоятельство проявляется при получении востребованного в озёрном рыбоводстве гибрида пеляди и чира. Самки речной пеляди созревают значительно раньше, чем самцы чира. С другой стороны, гонады самок озёрной пеляди достигают зрелости после завершения нерестового периода у чира.

В литературе авторы, в основном, приводят значения объёма разовой порции эякулята сиговых рыб [10, 12, 13, 14, 78, 80]. Сведения о динамике данного показателя в течение нерестового периода отсутствуют.

Цель – изучение динамики продуцирования спермы у сиговых рыб Обь-Иртышского бассейна в течение нерестового периода.

Исследования проводили на рыбоводном пункте «Рахтынья» в октябре 2009 г. Материалом для исследования служили зрелые половые продукты самцов тугуна, речной пеляди, сига-пыжьяна, чира. Для опытов сперму получали методом отцеживания «текучих» самцов (V стадии зрелости гонад)[3]. Для оценки динамики объёма продуцируемого самцами эякулята в течение нерестового периода было проведено две серии опытов в 2009 г.

Целью первой серии опытов было оценить динамику объёма единовременно продуцируемой порции эякулята. В опытах измеряли объём эякулята у самцов тугуна, речной пеляди, сига-пыжьяна и чира, выдерживаемых в садке и не принимающих участие в нересте в установках для экологического сбора

икры или неиспользуемые для отцеживания спермы для осеменения икры при рыбоводных работах (чир). Самцы с гонадами на IV и VI стадиях развития гонад в выборке не учитывались. Интервал между взятием пробы спермы составлял от 1 до 8 дней. За период исследований пробы отбирали у тугуна 4 раза, у речной пеляди – 6 раз, у сига-пыжьяна – 8 раз и чира – 5 раз. Измерение объёма эякулята было проведено у 42 особей тугуна, 65 экз. речной пеляди, 74 и 53 экз. сига-пыжьяна и чира соответственно. Рыбу вылавливали из садка по случайному принципу. Масса самцов тугуна находилась в пределах от 7,5 до 27,4 г, со средним значением 14,0 г; речной пеляди в интервале от 258 до 780 г, со средним значением 366,8 г; сига-пыжьяна – от 150 до 714 г, со средней массой 298 г; чира – от 733 до 1821, средней массой 1250 г. Исследования проводили с первого октября по восьмое ноября. Данный период совпал у тугуна с периодом нереста до окончания V стадии зрелости семенников (с 1 по 18 октября), у речной пеляди и сига-пыжьяна – с периодом до начала нереста и после его окончания (с 3 октября по 8 ноября), у чира – с начала V стадии зрелости семенников до периода массового сбора икры (с 13 октября по 8 ноября).

Целью второй серии являлась оценка влияния ежедневного отцеживания спермы на динамику объёма эякулята. Практическое значение этого исследования – определение возможности каждодневного использования для осеменения икры одних и тех же самцов в случае их дефицита.

Для опытов в отдельный садок было отсажено три самца чира: масса самца «А» составляла 914 г, самца «Б» – 1423 г, самца «В» – 733 г. В каждом из опытов с интервалом 24 часа измеряли объём порции эякулята у конкретного самца. Общая продолжительность опытов с двумя самцами («А», «Б») составляла 12 дней, с самцом «В» – 21 день. Первую и вторую серии опытов проводили параллельно. В ходе выполнения опытов наблюдали постепенное сезонное понижение температуры воды с 4,5 до 1,6 °С.

По результатам исследований, у самцов исследованных видов массовый переход на V стадию зрелости гонад наступал за 1 – 3 недели до момента

единичного созревания гонад у самок. Как показывают результаты первой серии, объём единовременно продуцируемой порции эякулята у них в течение нерестового сезона существенно изменялся.

Тугун. Первое отцеживание спермы самцов тугуна 1 октября происходило уже в период нереста. Объём порции эякулята в выборке находился в интервале от 0,02 до 0,09 мл со средним значением 0,04 мл. Через 5 суток средний объём эякулята несущественно снизился, но диапазон значений остался тот же. В конце нереста 11 октября объём эякулята уменьшился до среднего значения 0,03 мл в интервале от 0,01 до 0,04 мл. По окончании нереста 14 октября объём порции эякулята у шести исследованных самцов был на пределе точности определения – 0,01 мл (рисунок 26). В этот период текущие самки уже не отмечались.

В период исследования с 1 по 11 октября гонады всех самцов в выборке находились на V стадии развития. По завершению нереста 14 октября у 16 % самцов семенники перешли на VI стадию развития. К 18 октября текущие самцы не наблюдались.

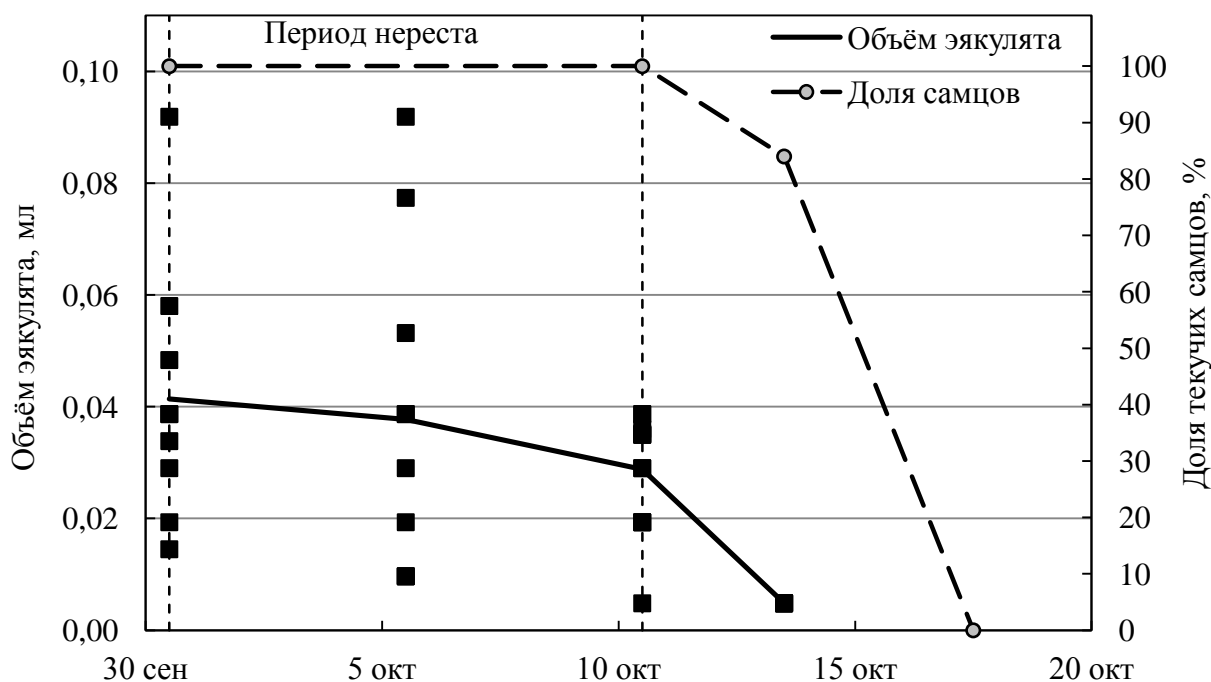


Рисунок 26 – Изменение объёма порции эякулята тугуна и доли текущих самцов на рыбноводном пункте «Рахтынья» в течение нерестового периода 2009 г.

Речная пелядь. До начала нереста 3 октября самцы речной пеляди продуцировали в среднем 0,08 мл спермы при диапазоне значений в выборке от 0,01 до 0,46 мл. К началу нереста 11 октября объём порции эякулята самцов в выборке находился в интервале 0,06-1,07 мл при среднем значении 0,25 мл. В период массового нереста 15 и 23 октября средний объём эякулята увеличился до 0,44 и 0,48 мл соответственно. Диапазон значений составлял 0,06-0,90 мл. По окончании нереста 8 ноября, когда уже отсутствовали самки со зрелыми гонадами, средний объём порции эякулята оставался на уровне периода массового нереста – 0,44 мл, в диапазоне значений от 0,01 до 0,80 мл (рисунок 27).

До начала нереста 3 октября у 33 % самцов гонады находились на IV стадии развития. К нерестовому периоду 11 октября в выборке гонады всех самцов перешли на V стадию зрелости. После завершения нереста 8 ноября, несмотря на то, что средний объём эякулята не снизился по сравнению с предыдущим измерением, в выборке у 8% самцов гонады перешли на VI стадию.

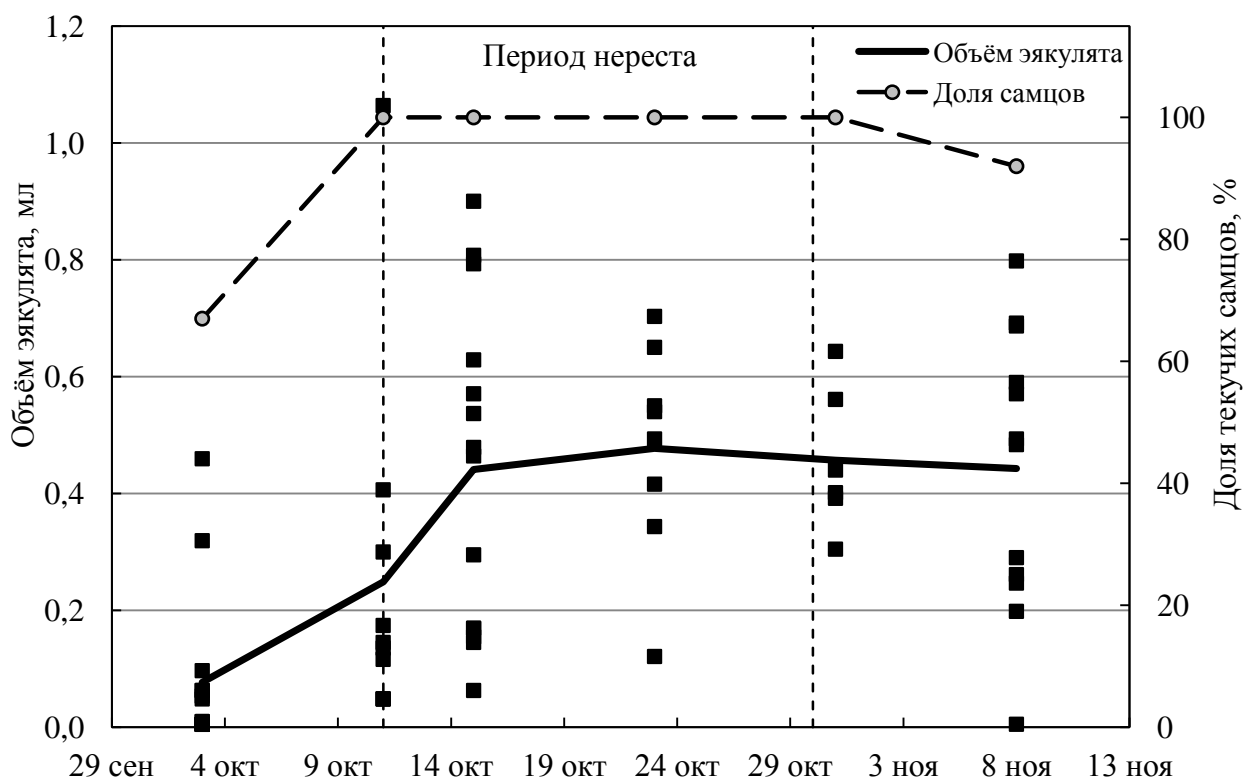


Рисунок 27 – Изменение объёма порции эякулята речной пеляди и доли текущих самцов на рыбноводном пункте «Рахтынья» в течение нерестового периода 2009 г.

Сиг-пыжьян. До начала нереста 5 октября объём эякулята самцов сига-пыжьяна уже находился в интервале от 0,20 до 0,53 мл при среднем значении 0,31 мл. В период начала нереста 13 октября самцы были способны продуцировать от 0,16 до 1,45 мл эякулята, в среднем – 0,62 мл. На аналогичном уровне средний объём эякулята оставался в течение нерестового периода. В конце нереста 29 октября объём эякулята в выборке немного уменьшился и находился в интервале от 0,01 до 1,10 мл со средним значением 0,55 мл. По окончании нереста 8 ноября средний объём эякулята снизился до 0,46 мл и находился в интервале от 0,03 до 0,91 мл (рисунок 28). Необходимо отметить, что в течение всего периода исследования все самцы сига-пыжьяна в выборках находились в «текущем» состоянии.

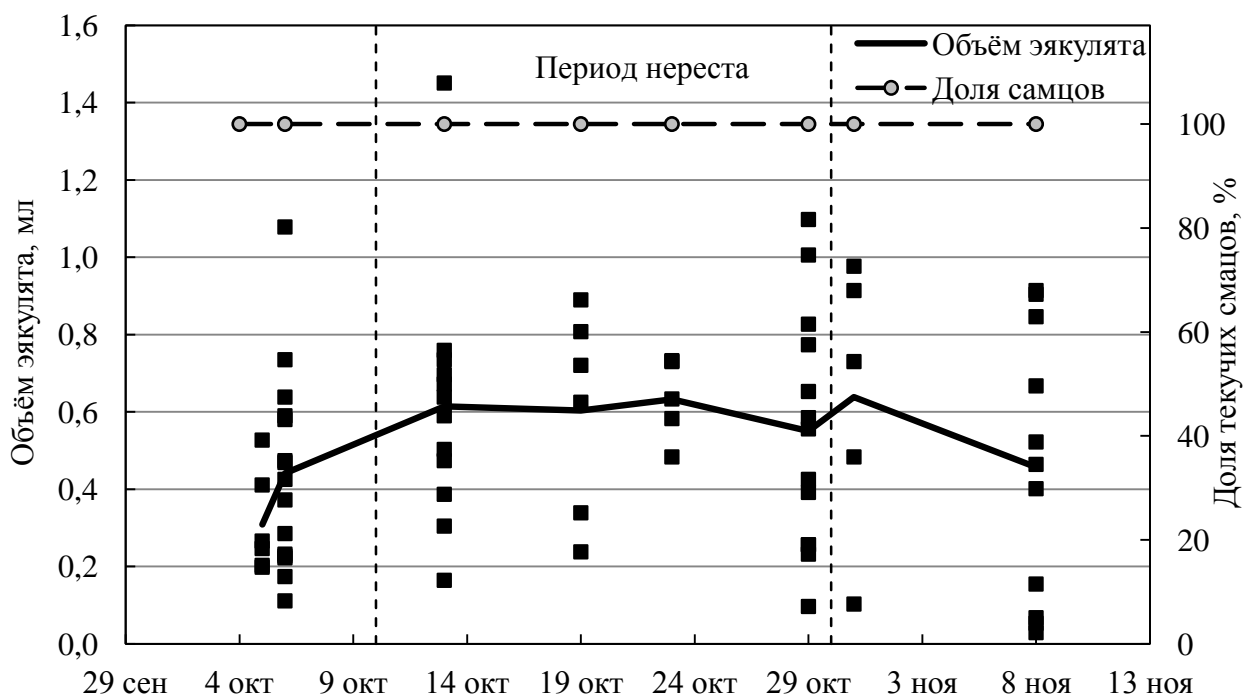


Рисунок 28 – Изменение объёма порции эякулята сига-пыжьяна и доли текущих самцов на рыбноводном пункте «Рахтынья» в течение нерестового периода 2009 г.

Чир. В начале периода созревания 13 октября объём порции эякулята чира в выборке находился в интервале 0,18-0,68 мл, средний объём составлял 0,38 мл. Через 8 дней 21 октября средний объём продуцируемой порции в выборке увеличился в 3,5 раза – до 1,32 мл при интервале значений в выборке 0,22-3,10 мл. Перед началом сбора самцы были способны продуцировать

от 0,56 до 3,55 мл эякулята при среднем значении 1,66 мл. В период сбора икры 3 и 8 ноября средний объём порции эякулята увеличился до 2,40 и 2,48 мл соответственно. Диапазон значений в двух выборках составлял от 1,21 до 4,19 мл. Таким образом, с момента начала созревания семенников до массового сбора икры объём продуцируемого эякулята увеличился в 6 раз (рисунок 28).

Единичное созревание самцов было отмечено 4 октября. Переход семенников на V стадию развития у 50 % самцов наблюдалось 8 октября. У всех выдерживаемых самцов созревание гонад завершилось к 20 октября. До 8 ноября гонады всех самцы находились на V стадии развития.

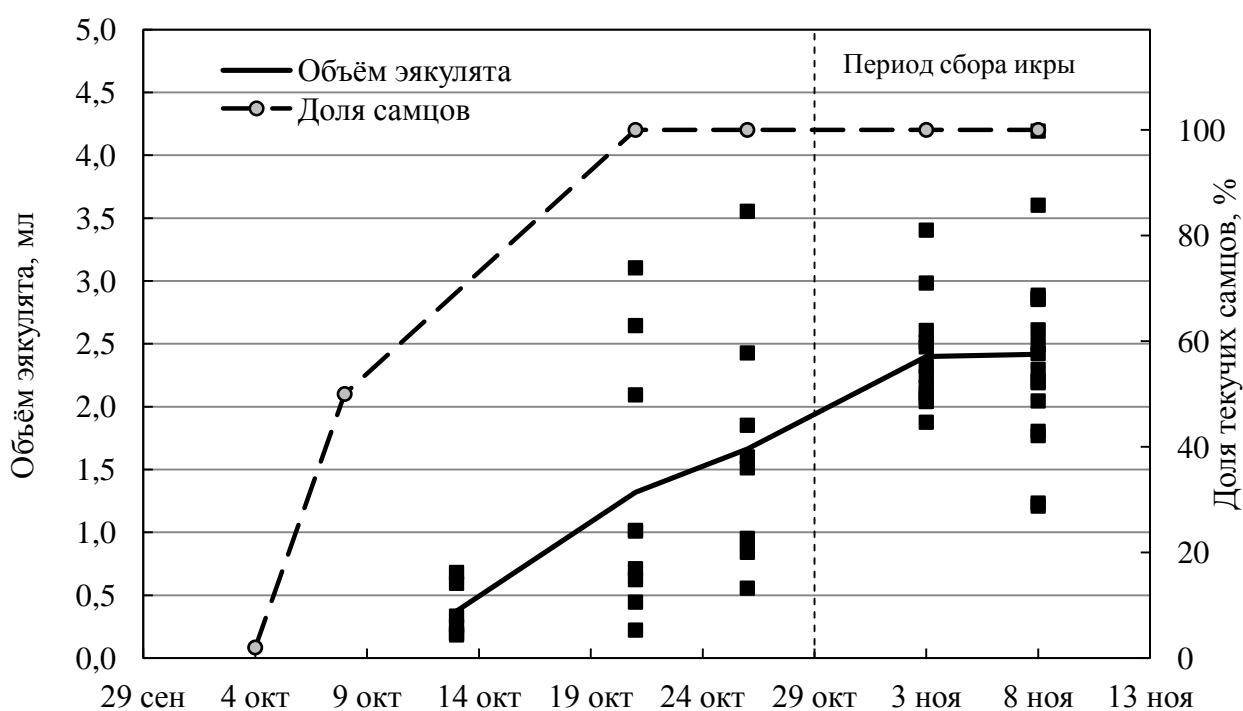


Рисунок 29 – Изменение объема порции эякулята чира и доли текущих самцов на рыбоводном пункте «Рахтынья» в течение нерестового периода 2009 г.

Во второй серии опытов была рассмотрена динамика объема эякулята при ежедневном отцеживании спермы. По нашим данным, у самца «А» наблюдалась достоверная отрицательная корреляция между объемом порции эякулята и частотой отцеживания ($r = -0,71$; $P \geq 0,95$; $n = 12$). В первые трое суток исследований средний объем порции эякулята составлял 0,79 мл, на 9-12 сутки – 0,45 мл. Достоверной связи между объемом порции эякулята и ко-

личеством ежедневно отцеженных порций у самца «Б» обнаружено не было, коэффициент корреляции составлял 0,11 при $P < 0,95$ ($n = 12$). Средний объём порции эякулята за период исследований составлял 0,80 мл. Объём порции эякулята у самца «В» находился в положительной достоверной зависимости от частоты отцеживания ($r = 0,54$; $P \geq 0,95$; $n = 21$). Объём порции за исследуемый период у самца «В» увеличился с 0,43 до 0,77 мл. Исходя из представленных данных, можно предположить, что при ежедневном сборе эякулята у самцов не наблюдается чёткой зависимости объёма разовой порции эякулята от даты и частоты отцеживания.

Во второй серии опытов у исследуемых самцов объём единовременной порции в начале нереста 13 октября составлял 0,60 мл и находился на том же уровне, что у самцов из первой серии. Через 8 дней 21 октября средний объём спермы у самцов из второй серии составлял 0,72 мл, при разбросе значений 0,64-0,95 мл, что в 1,9 раза меньше, чем у самцов из первой серии. В период массового сбора икры 1 ноября у опытных самцов объём спермы был в пределах 0,40-0,86 мл, в среднем – 0,66 мл, что в 3,7 раза меньше, чем у самцов чира из первой серии опытов (рисунок 30).

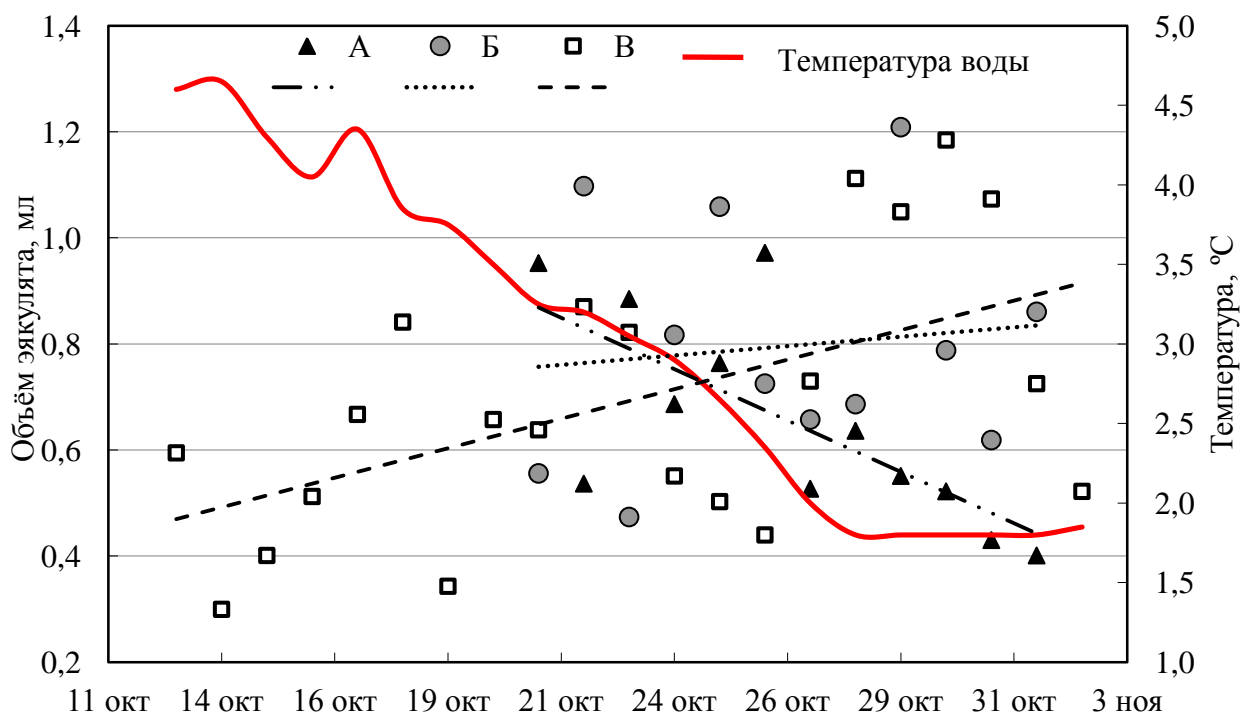


Рисунок 30 – Объём ежедневно продуцируемой порции эякулята у трёх опытных самцов чира (А, Б, В)

Новая порция эякулята в семеннике созревает ежедневно и самцы способны принимать участие в нересте каждый день [77]. Однако, при ручном ежедневном отцеживании спермы объём единовременно продуцируемой порции эякулята существенно снижается. Вероятно, данный эффект вызван «стрессовым» состоянием рыбы, вызванным манипуляциями рыбоведа (хендлингом). В случае достаточного количества самцов, целесообразно разделить их на две группы и использовать для отбора спермы в рыбоводных целях поочередно.

Таким образом, объём единовременно продуцируемой порции эякулята существенно изменяется в течение нерестового сезона. Стабильно высокие значения этого показателя регистрируются в период массового созревания гонад самок и составляют в среднем у тугуна 0,04 мл; у речной пеляди – 0,40 мл; у сига-пыжьяна – 0,62 мл; у чира – 2,42 мл. При ежедневном отцеживании спермы у самцов чира снижается объём порции эякулята по сравнению с самцами, неиспользуемыми в рыбоводном процессе.

2.2.4 Динамика концентрации спермиев в эякуляте в течение нерестового периода

Количество спермиев в единице объёма эякулята является важным показателем качества половых продуктов самцов. Концентрация спермиев сиговых рыб, выращенных в индустриальных условиях на Северо-Западе России, приведена в ряде работ [10, 12, 14, 57, 78, 80]. Исследования концентрации спермиев в эякуляте сиговых рыб из естественных популяций Обь-Иртышского бассейна ранее не проводилось.

Цель – оценить динамику концентрации спермиев в эякуляте сиговых рыб Обь-Иртышского бассейна в течение нерестового периода.

Исследования проводили на рыбоводном пункте «Рахтынья» в октябре 2009 г. Материалом для исследования служили зрелые половые продукты самцов тугуна, речной пеляди, сига-пыжьяна и чира. Концентрацию спермиев определяли при изучении динамики объёма эякулята (см. главу 2.2.3).

Концентрацию спермиев оценивали в двух аналогичных сериях опытов: в первой серии исследовали динамику концентрации спермиев в единовременно продуцируемой порции эякулята в течение нерестового периода; во второй – влияние ежедневного отцеживания спермы на динамику концентрации спермиев в эякуляте. В первой серии концентрация спермиев в эякуляте была определена для 37 самцов тугуна, 52 самцов речной пеляди, 53 самцов сига-пыжьяна и 50 самцов чира. Во второй серии концентрация спермиев определялась у трёх самцов чира в течение 9-16 дней.

Тугун. Концентрация спермиев у тугуна не была постоянной в течение нерестового периода. Прослеживалась тесная связь изучаемого показателя со средним объёмом разовой порции эякулята. Между средними значениями концентрации спермиев и объёма эякулята наблюдалась статистически достоверная прямая корреляция ($r = 0,87$; $P \geq 0,95$; $n = 4$). В частности, максимальная концентрация спермиев $6,60 \pm 1,22$ и $6,82 \pm 1,03$ млрд шт./мл отмечалась в период с 1 по 6 октября при наибольшем объёме эякулята (рисунок 31). После завершения нерестового периода 14 октября концентрация спермиев в эякуляте снизилась в 5 раз до $1,34 \pm 0,34$ млрд шт./мл.

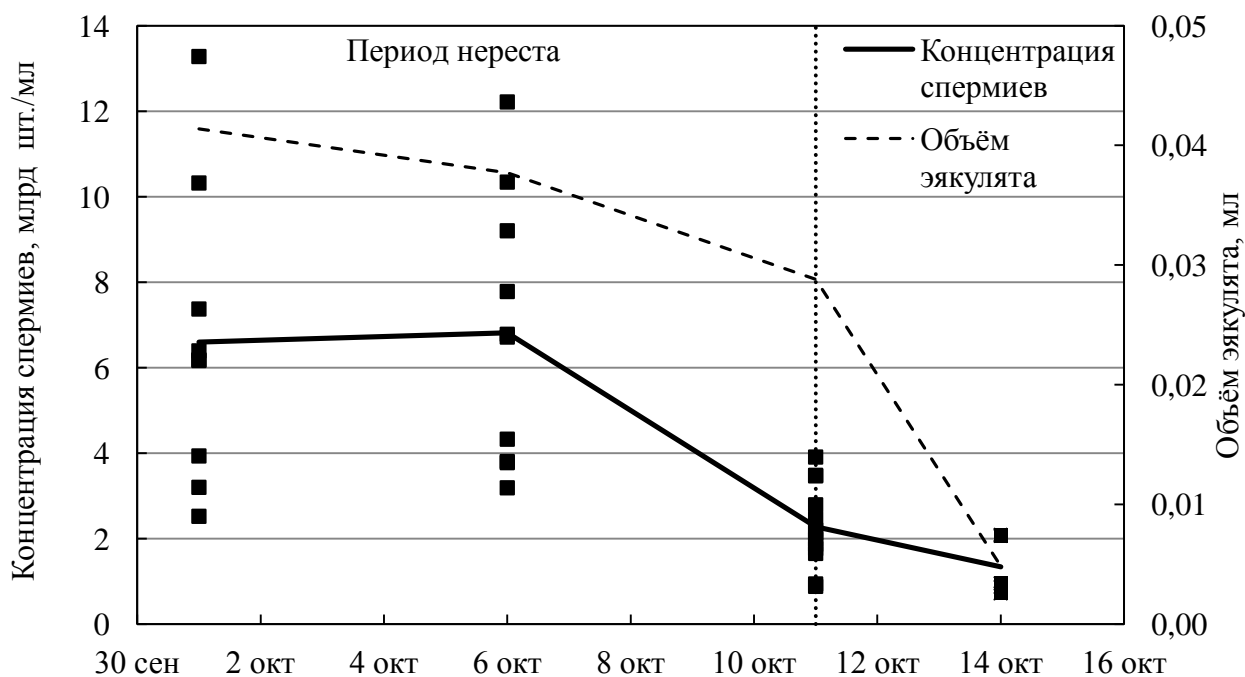


Рисунок 31 – Динамика концентрации спермиев и объёма разовой порции эякулята у тугуна на рыбноводном пункте «Рахтынья» в течение нерестового периода 2009 г.

Речная пелядь. Между средними значениями концентрации спермиев и объёма эякулята у речной пеляди в течение нерестового периода наблюдалась ярко выраженная, но недостоверная отрицательная корреляция ($r = -0,70$; $P < 0,95$; $n = 5$). Данную зависимость определила первая выборка, сделанная до начала нереста 3 октября. При минимальном среднем объёме порции эякулята 0,25 мл наблюдалась максимальная средняя концентрация спермиев – $9,37 \pm 1,17$ млрд шт./мл. В период нереста 10-23 октября средняя концентрация была в пределах от $6,35 \pm 0,63$ до $7,41 \pm 1,30$ млрд шт./мл. После окончания нереста средняя концентрация спермиев в выборке из четырёх самцов составляла $5,30 \pm 2,28$ млрд шт./мл (рисунок 32).

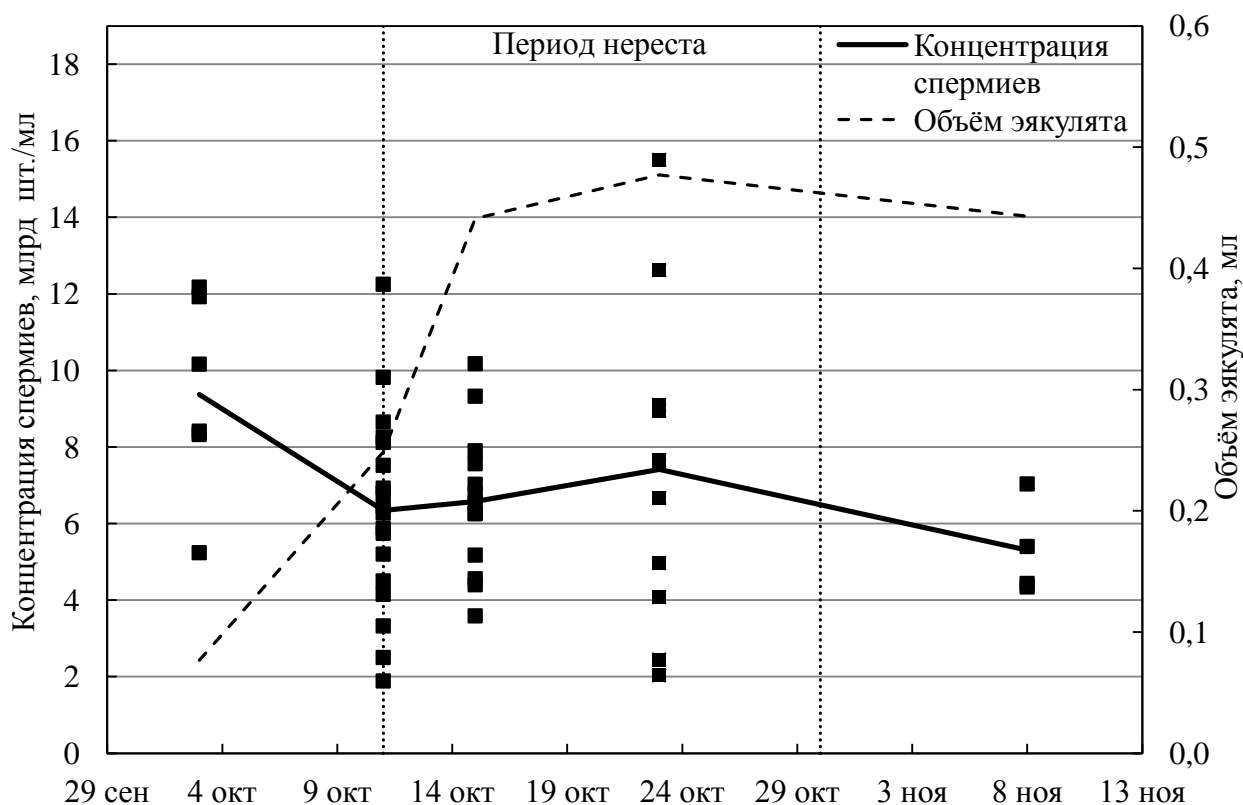


Рисунок 32 – Изменение концентрации спермиев и объёма эякулята у речной пеляди на рыбноводном пункте «Рахтынья» в течение нерестового периода 2009 г.

Сиг-пыжьян. Средняя концентрация спермиев в эякуляте сига-пыжьяна в течение периода исследования находилась в пределах от $2,83 \pm 0,47$ до $6,77 \pm 0,97$ млрд шт./мл, при среднем значении $4,31 \pm 0,59$ млрд шт./мл (рисунок 33). Средняя концентрация спермиев от среднего объёма эякулята зави-

села слабо положительно и статистически недостоверно ($r = 0,40$; $P < 0,95$; $n = 6$).

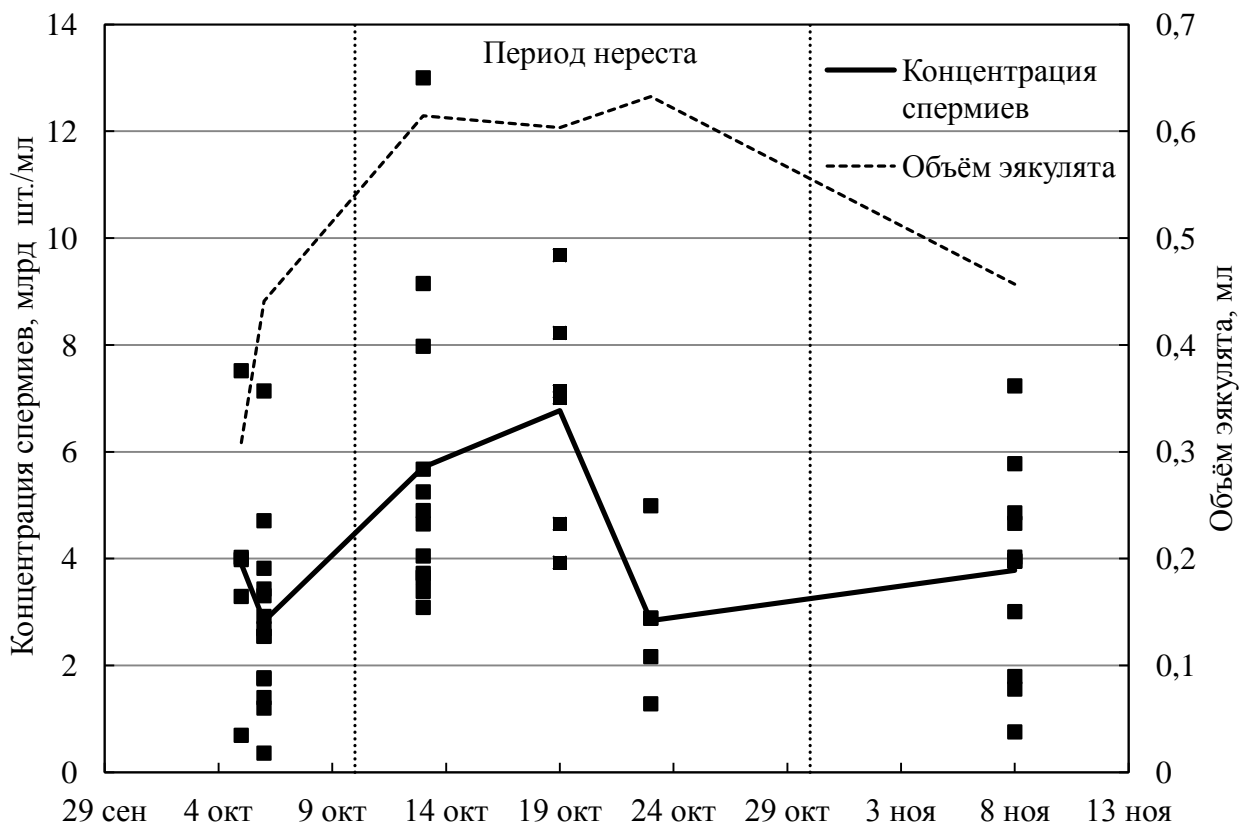


Рисунок 33 – Изменение концентрации спермиев и объёма эякулята у сига-пыжьяна на рыбноводном пункте «Рахтынья» в течение нерестового периода 2009 г.

Чир. Максимальная концентрация спермиев в эякуляте чира, как и у речной пеляди, была отмечена до начала нереста 13 октября и составляла $7,16 \pm 0,94$ млрд шт./мл. Возможно, данный эффект объясняется низким разбавлением спермы семенной жидкостью. Наблюдение за самцами речной пеляди и чира началось до перехода гонад всех рыб на V стадию зрелости, тогда как у всех самцов сига-пыжьяна и тугуна к моменту начала наблюдений гонады уже созрели (см. главу 2.2.3). После созревания гонад всех самцов чира средняя концентрация спермиев в эякуляте составляла $5,19 \pm 0,33$ млрд шт./мл (рисунок 34). Связь между средними значениями концентрации спермиев и объёма эякулята была отрицательной и недостоверной ($r = -0,50$; $P < 0,95$; $n = 5$). Аналогично речной пеляди данная связь определялась первой выборкой.

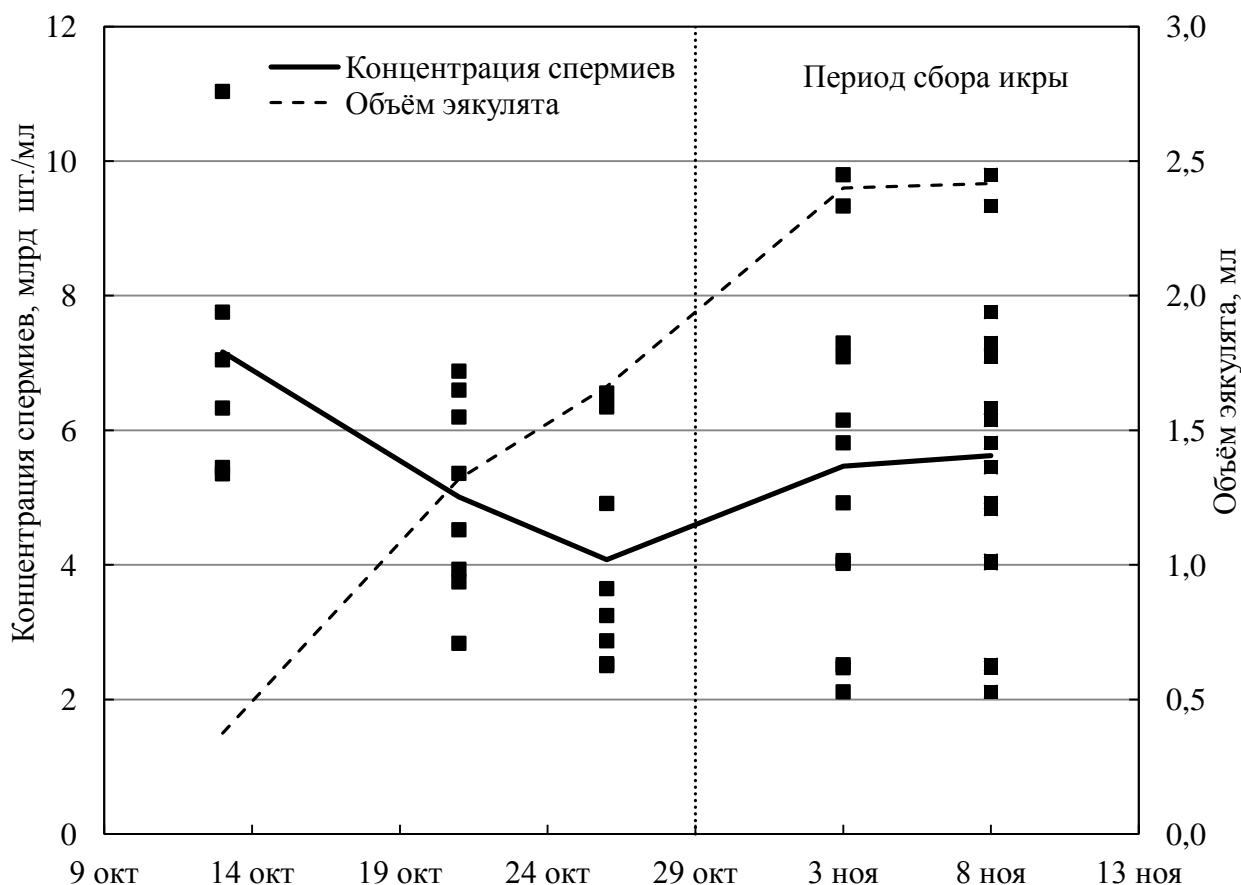


Рисунок 34 – Изменение концентрации спермиев и объема эякулята у чира на рыбноводном пункте «Рахтынъя» в течение нерестового периода 2009 г.

Во второй серии средняя концентрация спермиев в эякуляте у исследуемых самцов отличалась. Максимальная средняя концентрация спермиев в эякуляте наблюдалась у самца «А» и составляла $6,57 \pm 0,66$ млрд шт./мл. У самца «Б» средняя концентрация спермиев в эякуляте была незначительно ниже и равнялась $6,07 \pm 0,47$ млрд шт./мл. Минимальная средняя концентрация спермиев наблюдалась у самца «В» при значении $4,38 \pm 0,30$ млрд шт./мл (рисунок 35). У самцов также была различна и динамика изучаемого показателя. Так, у самца «А» между концентрацией спермиев в эякуляте и количеством отобранных проб связь была ярко выраженной отрицательной и статистически достоверной ($r = -0,65$; $P \geq 0,95$; $n = 10$). У самца «Б» данная связь уже была менее выраженной и недостоверной ($r = -0,45$; $P < 0,95$; $n = 9$). У самца «В» концентрация спермиев в эякуляте практически не изменялась в течение периода исследования ($r = -0,06$; $P < 0,95$; $n = 16$; рисунок 35).

Следовательно, при ежедневном отцеживании эякулята концентрация спермиев в нём снижается. Но, вероятно, если начальная концентрация спермиев уже была «низкой», то ежедневный отбор эякулята на её значение влияние не оказывает.

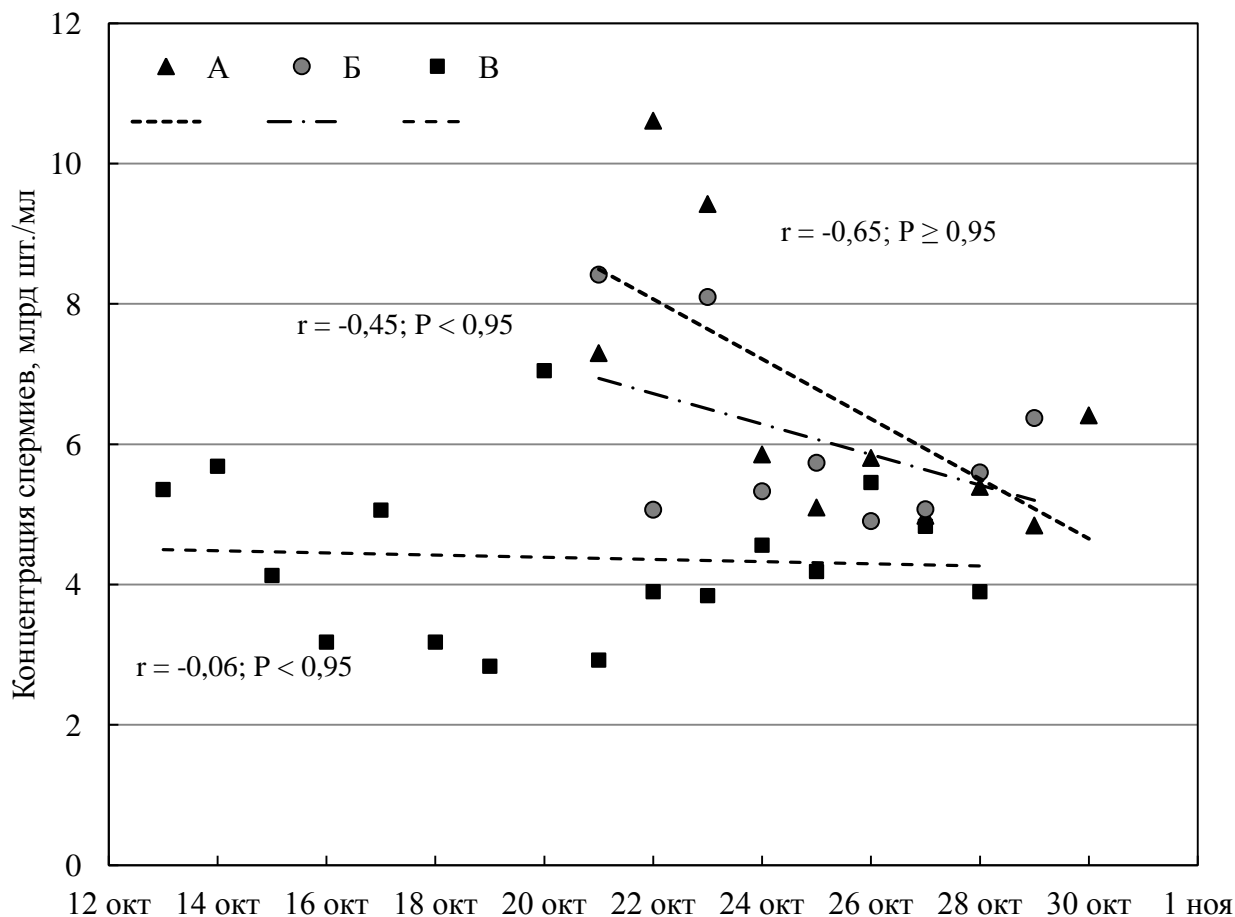


Рисунок 35 – Концентрация спермиев в ежедневно продуцируемой порции эякулята у трёх опытных самцов чира (А, Б, В)

Таким образом, в нерестовой период максимальная концентрация спермиев в эякуляте среди исследованных сиговых рыб наблюдалась у речной пеляди при среднем значении $6,70 \pm 0,45$ млрд шт./мл, для чира и тугуна была характерна меньшая концентрация спермиев – $5,13 \pm 0,33$ и $4,91 \pm 0,60$ млрд шт./мл соответственно, для сига-пыжьяна – $4,26 \pm 0,37$ млрд шт./мл (таблица 8). По литературным данным, средняя концентрация спермиев в эякуляте обских сиговых рыб, выращенных на ЦЭС ГосНИОРХ «Ропша», была близка и находилась в пределах от 5,13 млрд шт./мл у чира до 8,35 млрд шт./мл у озёрной пеляди [10, 12, 14, 57, 78, 80].

Таблица 8 – Концентрация спермиев (млрд шт./мл) в эякуляте сиговых рыб в период массового созревания гонад самок, 2009 г.

Вид	n	min	max	Хср. ± m _x .	±σ	CV, %
Тугун	32	0,88	13,28	4,91±0,60	3,32	60
Речная пелядь	42	1,89	15,50	6,70±0,45	2,86	43
Сиг-пыжьян	48	0,36	13,00	4,26±0,37	2,54	60
Чир	44	2,12	9,80	5,19±0,33	2,17	42

Можно предположить, что динамика концентрации спермиев в эякуляте не имеет видовой специфики и полученные различия связаны с периодом наблюдения. Так, окончание нерестового периода и V стадии зрелости гонад самцов было отмечено только у тугуна. Вероятно, данное обстоятельство является основной причиной ярко выраженной положительной и достоверной связи между динамикой концентрации спермиев и динамикой объёма эякулята в течение нерестового периода. Однако, переход гонад самцов тугуна на V стадию зрелости в период наблюдений не вошёл. В то же время, отбор проб у самцов речной пеляди и чира начали к моменту наступления V стадии развития гонады. В связи с чем, корреляция между динамикой концентрации спермиев и динамикой объёма эякулята у данных видов отрицательная. В период наблюдения гонады всех самцов сига-пыжьяна находились на V стадии зрелости. Рассматриваемая зависимость у данного вида была положительной, но менее выраженной, чем у других сиговых. Вероятно, что в случае наблюдения в течение всей V стадии развития гонад самцов у одного вида зависимость динамики концентрации спермиев от динамики объёма эякулята имела бы следующие стадии:

- 1) в начале периода созревания гонад самцы продуцировали порцию эякулята малого объёма, но с высокой концентрацией спермиев;
- 2) в период нереста – максимальный объём эякулята со стабильной средней концентрацией спермиев;
- 3) завершение периода созревания гонад – низкие значения объёма эякулята и концентрации спермиев.

2.2.5 Взаимосвязь объёма эякулята и размеров самцов

При искусственном воспроизводстве объём единовременно продуцируемой порции эякулята является важной биотехнологической характеристикой самцов. По объёму разовой порции эякулята вполне корректно можно судить о «технологической продуктивности» самцов при рыбоводных работах, так как концентрация спермиев в эякуляте даже у разных видов сиговых рыб варьирует в узких пределах (см. главу 2.2.4).

Известно, что в течение нерестового сезона объём порции эякулята у самцов меняется, достигая стабильно высоких значений в период массового нереста (см. главу 2.2.3). Следовательно, объём порции зависит от момента её отбора. Закономерно возникает вопрос о влиянии на продуцирование спермы и других факторов, в частности, размера самцов. Ранее взаимосвязь длины самцов и объёма эякулята была показана, в основном, на карповых и лососевых рыбах [77, 91, 92, 93, 94, 95]. На сиговых рыбах аналогичные исследования выполнены на самцах чира и озёрной пеляди, выращиваемых водоёмах Северо-Запада европейской части России [12, 13, 14, 78, 80]. Однако производители из естественных популяций сиговых рыб в этом отношении не изучены.

Цель – оценить взаимосвязь размеров самцов сиговых рыб Обь-Иртышского бассейна с объёмом единовременно продуцируемой ими порции эякулята в период массового созревания гонад самок.

Материалом для исследования служили самцы тугуна, сига-пыжьяна, речной пеляди, чира и их половые продукты. Исследования проводились в октябре 2008-2009 гг. на рыбоводном пункте «Рахтынья». В опытах измеряли объём эякулята у самцов, выдерживаемых в садке и не принимающих участие в нересте в установках для экологического сбора икры [20] или неиспользуемых для отцеживания спермы для осеменения икры при рыбоводных работах (чир). Учитывая сложную динамику продуцирования спермы в течение нерестового сезона, измерения проводили в период массового созревания гонад самок при стабильно высоких значениях объёма эякулята. Всего была

оценена взаимосвязь размерно-массовых характеристик самцов и объём продуцируемого ими эякулята у 47 экз. тугуна, 38 экз. речной пеляди, 41 экз. сига-пыжьяна и 38 экз. чира.

Тугун. Средняя промысловая длина тела исследованных самцов тугуна в 2008 и 2009 гг. составляла $11,3 \pm 0,3$ и $11,7 \pm 0,4$ см соответственно. Средняя масса рыб равнялась $14,9 \pm 1,5$ г в 2008 г. и $14,5 \pm 0,8$ в 2009 г. (таблица 9). Средний объём порции эякулята в 2008 г. составлял $0,04 \pm 0,01$ мл, в 2009 г. данное значение было в 1,3 раза меньше – $0,03 \pm 0,01$ мл (таблица 10). Между удельной продукцией эякулята и массой самцов тугуна прослеживается слабая статистически недостоверная корреляция ($r = -0,27 - -0,11$; $P < 0,95$). Среднее значение отношения объёма эякулята к массе тела составляло в 2008 г. $2,70 \pm 0,41$ мл/кг, в 2009 г. – $2,34 \pm 0,26$ мл/кг (таблицы 11 и 12). В оба года исследований между длиной тела и объёмом эякулята наблюдалась статистически достоверная положительная корреляция ($r = 0,44 - 0,56$; $P \geq 0,95$; таблица 13, рисунок 36).

Речная пелядь. Средние значения промысловой длины и массы самцов речной пеляди в 2008 г. составляли $28,9 \pm 0,4$ см и $323,1 \pm 16,2$ г соответственно. В 2009 г. самцы были несколько крупнее – средняя длина равнялась $29,5 \pm 0,3$ см, а масса - $339,0 \pm 13,8$ г (таблица 9

ов

продуцировали порцию эякулята в 1,3 раза меньше, чем в предыдущем году, при среднем значении $0,33 \pm 0,06$ мл (таблица 10). Как в 2008 г., так и в 2009 г. между удельной продукцией эякулята и массой тела самцов речной пеляди наблюдалась слабо отрицательная статистически недостоверная связь ($r = -0,26 - -0,04$; $P < 0,95$; таблица 12). Удельная продукция эякулята в 2008 г. в среднем составляла $1,34 \pm 0,21$ мл/кг и была незначительно больше, чем в 2009 г. при среднем значении $0,99 \pm 0,18$ мл/кг (таблица 11). Взаимосвязь объёма эякулята и размеров самцов в оба года исследований была слабой и статистически недостоверной ($r = 0,05 - 0,19$; $P < 0,95$; таблица 13, рисунок 36).

Сига-пыжьян. Средняя промысловая длина самцов сига-пыжьяна в 2008 г. равнялась $29,0 \pm 0,5$ см; средняя масса – $303,8 \pm 20,2$ г. В 2009 г. данные показатели составляли – $26,7 \pm 0,3$ см и $239,2 \pm 9,8$ г соответственно (таблица 9). Средний объём разовой порции эякулята в 2008 г. составлял $1,04 \pm 0,09$ мл, а в 2009 г. самцы продуцировали в 1,8 раз меньше спермы – $0,58 \pm 0,06$ мл (таблица 10). Аналогично тугуну и речной пеляди, связь между удельной продукцией эякулята и массой самцов была статистически недостоверной и слабо отрицательной ($r = -0,40 - -0,10$; $P < 0,95$; таблица 12). Среднее значение отношения объёма эякулята к массе тела самца в 2008 г. составляло $3,51 \pm 0,26$ мл/кг, в 2009 г. – $2,48 \pm 0,30$ мл/кг (таблица 11). Между объёмом порции эякулята и длиной самцов сига-пыжьяна наблюдалась положительная, но статистически недостоверная корреляция ($r = 0,33 - 0,32$; $P < 0,95$; таблица 13, рисунок 36).

Чир. Средняя промысловая длина самцов чира в 2008 г. составляла $39,7 \pm 0,4$ см, в 2009 г. – $42,0 \pm 0,5$ см. Средняя масса самцов в 2008 г. равнялась $977,3 \pm 43,7$ г, в 2009 г. – $1177,3 \pm 55,4$ г (таблица 9). Средний объём разовой порции эякулята существенно не отличался в оба года исследований и составлял в 2008 г. – $2,29 \pm 0,16$ мл, в 2009 г. – $2,42 \pm 0,15$ мл (таблица 10). Из исследованных рыб только у чира как в 2008 г., так и в 2009 г., между удельной продукцией эякулята и массой самцов отмечена статистически достоверная, хорошо выраженная отрицательная связь ($r = -0,49 - -0,67$; $P \geq 0,95$; таблица 13). Среднее значение удельной продукции эякулята у чира в 2008 г. составляло $2,42 \pm 0,21$ мл/кг. Увеличение средних размеров самцов в 2009 г. сопровождалось снижением удельной продукции эякулята – $2,18 \pm 0,21$ мл/кг (таблица 12). В 2008 г. зависимость объёма эякулята от длины самца отсутствовала ($r = 0,04$; $P < 0,95$). В 2009 г. взаимосвязь между этими показателями была слабо отрицательной и статистически недостоверной ($r = -0,20$; $P < 0,95$; таблица 13, рисунок 36).

Таблица 9 – Промысловая длина и масса самцов сиговых рыб на рыбоводном пункте «Рахтынья»

Вид	2008 г.					2009 г.				
	п, экз.	Длина		Масса		п, экз.	Длина		Масса	
		Хср. ± m _x , см	CV, %	Хср. ± m _x , г	CV, %		Хср. ± m _x , см	CV, %	Хср. ± m _x , г	CV, %
Тугун	20	11,3±0,3	10	14,9±1,5	44	27	11,7±0,4	15	14,5±0,8	29
Речная пелядь	14	28,9±0,4	5	323,1±16,2	18	24	29,5±0,3	5	339,0±13,8	20
Сиг-пыжьян	16	29,0±0,5	7	303,8±20,2	26	25	26,7±0,3	6	239,2±0,8	22
Чир	17	39,7±0,4	4	977,3±43,7	18	21	42,0±0,5	5	1177,3±55,4	29

Таблица 10 – Объем разовой порции эякулята сиговых рыб на рыбоводном пункте «Рахтынья» в период массового созревания гонад самок

Вид	2008 г.						2009 г.					
	п, экз.	Объем эякулята, мл			±σ	CV, %	п, экз.	Объем эякулята, мл			±σ	CV, %
		min	max	Хср.				min	max	Хср.		
Тугун	20	0,010	0,092	0,039	0,025	65	27	0,005	0,063	0,027	0,018	67
Речная пелядь	14	0,102	0,986	0,422	0,247	59	24	0,048	1,064	0,334	0,279	84
Сиг-пыжьян	16	0,484	1,625	1,042	0,334	32	25	0,097	1,451	0,581	0,311	54
Чир	17	0,841	3,554	2,293	0,650	28	21	1,209	4,192	2,416	0,689	29

Таблица 11 – Удельная продукция эякулята сиговых рыб на рыбоводном пункте «Рахтынья» в период массового созревания гонад самок

Вид	2008 г.						2009 г.					
	п, экз.	Удельная продукция эякулята, мл/кг			±σ	CV, %	п, экз.	Удельная продукция эякулята, мл/кг			±σ	CV, %
		min	max	Хср.				min	max	Хср.		
Тугун	20	0,76	8,67	2,70	1,80	67	27	0,21	4,91	1,98	1,35	68
Речная пелядь	14	0,26	2,67	1,34	0,76	56	24	0,11	3,51	0,99	0,87	87
Сиг-пыжьян	16	1,55	5,41	3,51	1,01	24	25	0,54	6,31	2,48	1,43	58
Чир	17	1,02	4,11	2,42	0,83	36	21	0,81	4,78	2,18	0,93	43

Таблица 12 – Результаты корреляционного анализа связи между удельной продукцией эякулята и массой самцов сиговых рыб в период массового созревания гонад самок

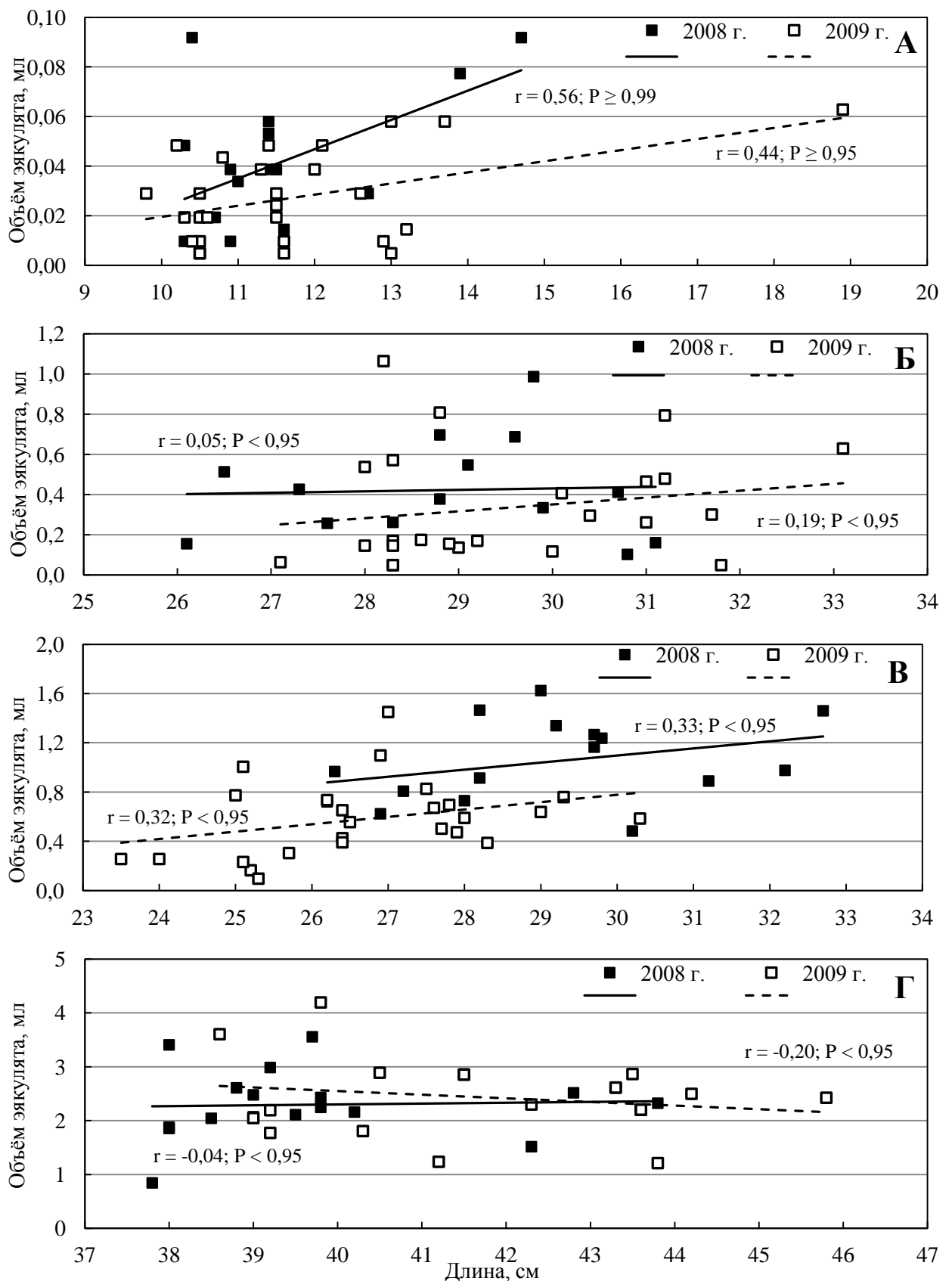
Вид	2008 г.				2009 г.			
	п, экз.	r	t _ф	P	п, экз.	r	t _ф	P
Тугун	20	-0,11	0,45	0,347	27	-0,27	1,39	0,835
Речная пелядь	14	-0,26	0,94	0,653	24	-0,04	0,19	0,151
Сиг-пыжьян	10	-0,40	1,51	0,866	25	-0,10	0,48	0,369
Чир	17	-0,49	2,19	0,972	21	-0,67	3,91	0,999

Таблица 13 – Результаты корреляционного анализа связи между объёмом эякулята и промысловой длиной самцов сиговых рыб в период массового созревания гонад самок

Вид	2008 г.				2009 г.			
	п, экз.	r	t _ф	P	п, экз.	r	t _ф	P
Тугун	20	0,56	2,84	0,997	27	0,44	2,43	0,985
Речная пелядь	14	0,05	0,16	0,127	24	0,19	0,91	0,889
Сиг-пыжьян	10	0,33	1,33	0,817	25	0,32	1,61	0,893
Чир	17	0,04	0,17	0,135	21	-0,20	0,90	0,632

Необходимо отметить, что у всех исследованных видов отмечена отрицательная связь между удельной продукцией эякулята и массой самца. Только у самцов чира данная связь была статистически достоверной и ярко выраженной. Подобная обратная зависимость удельной продукции эякулята от размеров самцов также показана А.Ф. Турдаковым [96] для иссык-кульской форели.

Объём спермы, продуцируемый на единицу массы тела, у всех исследованных видов рыб в 2009 г. уменьшился по сравнению с предыдущим годом от 1,1 раза у чира до 1,4 раз у сига-пыжьяна, речной пеляди и тугуна. При этом, уменьшение удельной продукции эякулята происходило как при неизменных размерно-массовых показателях самцов (тугун), так и при их увеличении (речная пелядь) или уменьшении (сиг-пыжьян). Можно предположить, что существенное влияние на значение удельной продукции спермы оказывают условия нагула рыб в течение вегетационного сезона, предшествующего нересту. Подобное влияние трофического фактора на относительную плодовитость было показано для речной формы пеляди обского бассейна [97].



А – тугун; Б – речная пелядь; В – сиг-пыжьян; Г – чир
 Рисунок 36 – Зависимость объёма единовременно продуцируемой порции эякулята от промысловой длины самцов сиговых рыб в период массового созревания гонад самок

Между средними величинами объёма продуцируемого эякулята и средними размерами самцов каждого вида исследуемых рыб в оба года наблюдалась статистически достоверная положительная корреляция ($r = 0,87$; $P \geq 0,95$; $n = 8$; рисунок 37). В частности, объём разовой порции эякулята относительно «крупного» вида – чира – в 57-81 раз больше, чем у «мелкого» тугуна. Интересно, что самцы сига-пыжьяна продуцируют одновременно в 2-4 раза больше спермы, чем речная пелядь при сравнимой средней массе рыб. При этом, средняя удельная продукция эякулята сиговых рыб не зависит от средних размеров самцов каждого вида. Между отношением объёма порции эякулята к массе самца и их промысловой длиной связь не прослеживается ($r = -0,10$; $P < 0,95$; $n = 8$; рисунок 38). Так, значительно различающиеся по массе самцы чира и тугуна продуцируют схожее количество спермы на единицу массы тела – в среднем 2,30-2,34 мл/кг. Объём эякулята, продуцируемый на единицу массы тела самца, у исследованных сиговых рыб в среднем составляет 2,20 мл/кг. Сравнительно небольшая вариабельность удельной продукции эякулята у сиговых рыб позволяет использовать данный показатель в предварительных рыбоводно-технологических расчётах при организации сбора икры неизученных в этом отношении популяций.

По литературным данным, для самцов сиговых рыб, выращенных в индустриальных условиях, связь объёма эякулята и размеров рыб более тесная. В частности, по данным Г.В. Ефанова [14], коэффициент корреляции между этими показателями для пеляди, выращиваемой на ЦЭС ГосНИОРХ «Ропша», составлял 0,60 при $P \geq 0,99$. Р.В. Казаков и Б.Б. Волошенко [10] указывают на достоверную положительную корреляцию 0,47-0,79 между объёмом продуцируемого эякулята и массой самцов муксуна, выращиваемой на ЦЭС ГосНИОРХ «Ропша». Однако, эти же авторы при работе с самцами пеляди и чира на ЦЭС ГосНИОРХ «Ропша» отмечают слабую недостоверную корреляцию между объёмом эякулята и размерно-массовыми показателями самца [80].

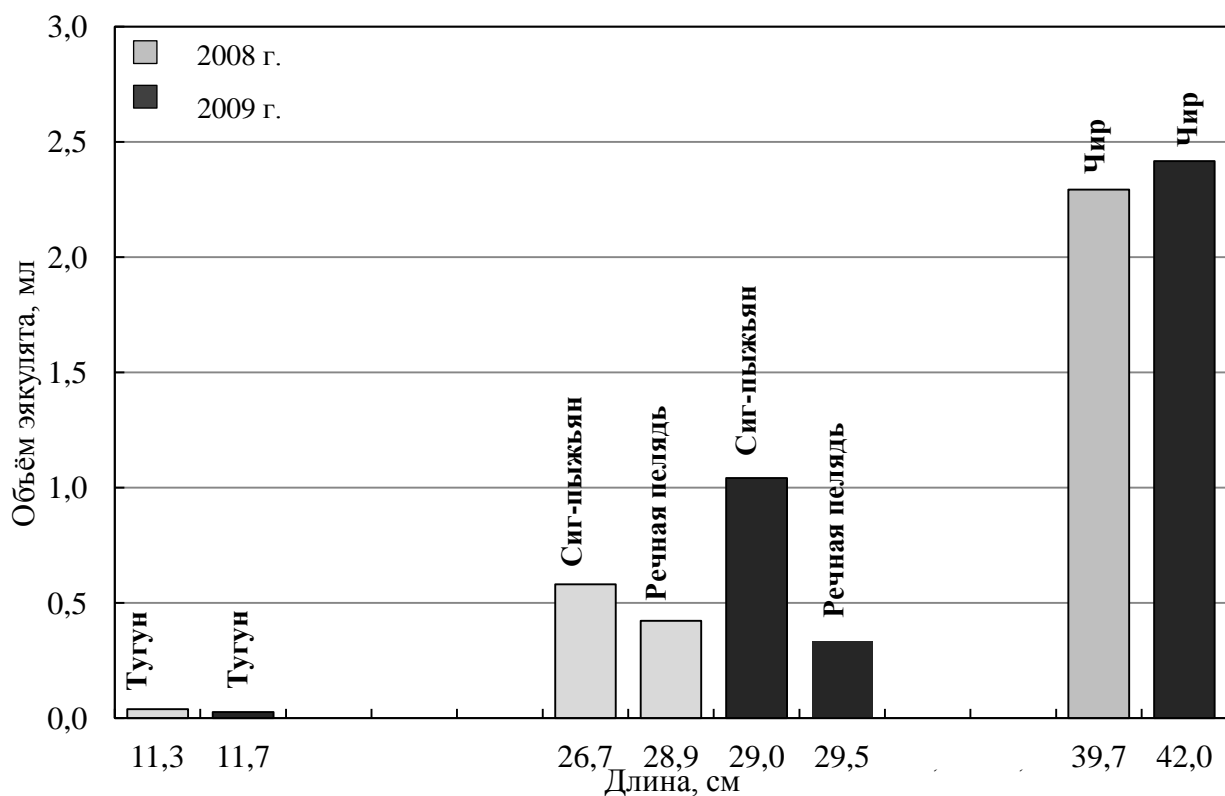


Рисунок 37 – Средний объём одновременно продуцируемой порции эякулята и средняя промысловая длина самцов сиговых рыб в период массового созревания гонад самок в 2008 и 2009 гг.

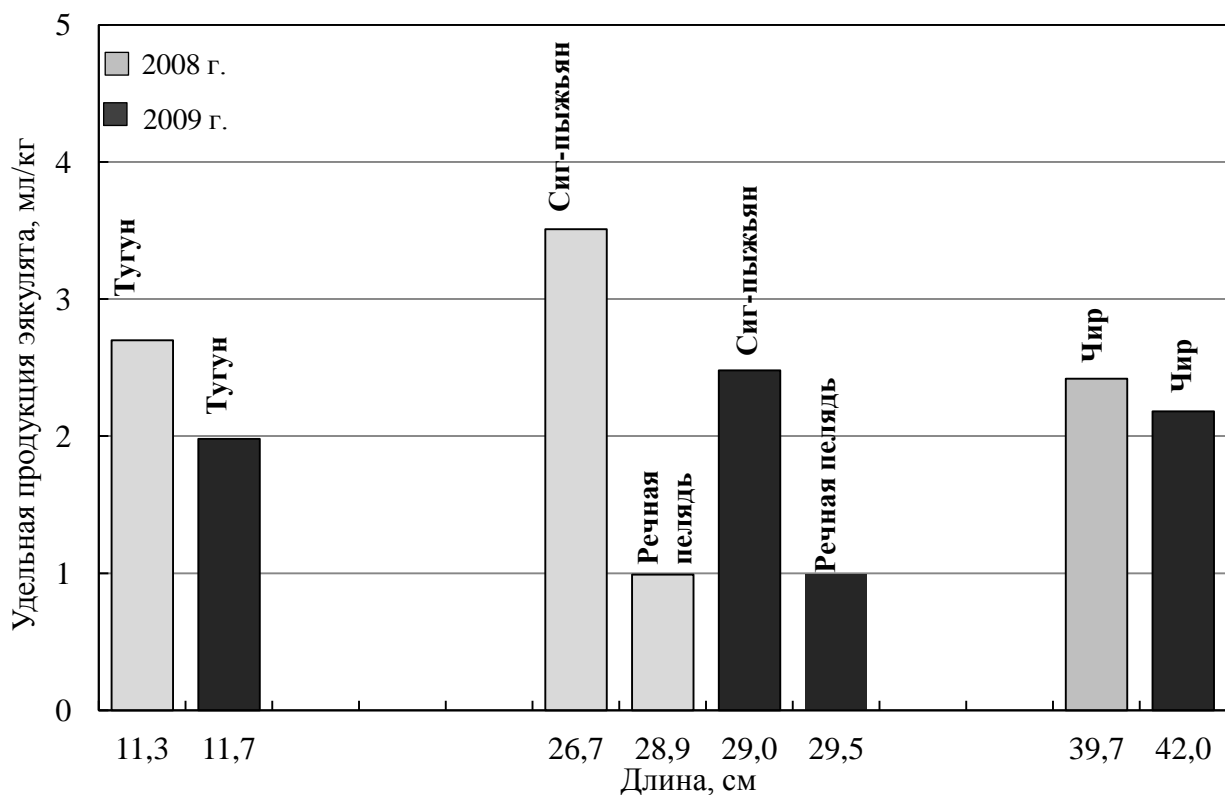


Рисунок 38 – Средняя удельная продукция эякулята и средняя промысловая длина самцов сиговых рыб в период массового созревания гонад самок в 2008 и 2009 гг.

Таким образом, сила корреляции между объёмом единовременно продуцируемой порцией эякулята и длиной самцов зависит от их видовой принадлежности. Статистически достоверная прямая зависимость между данными показателями выявлена у тугуна. У речной пеляди и сига-пыжьяна наблюдается слабая недостоверная корреляция, а у чира связь отсутствует.

2.2.6 Влияние объёма эякулята и размеров самцов на концентрацию спермиев

Как было показано, средняя концентрация спермиев в эякуляте в течение нерестового периода не постоянна и как объём порции эякулята зависит от момента сбора. Возникает вопрос: может ли оказывать влияние на концентрацию спермиев не только дата отбора, но и объём порции эякулята и размеры самцов. У сиговых рыб исследования по влиянию размеров самцов на концентрацию спермиев в эякуляте были проведены, в основном, для ендырьской пеляди, выращенной в ЦЭС ГосНИОРХ «Ропша» [14]. Подобные исследования для сиговых Обь-Иртышского бассейна в литературе не представлены.

Цель – оценить влияние объёма эякулята и размеров самцов Обь-Иртышского бассейна на концентрацию спермиев в период массового созревания гонад самок.

Исследования проводили на рыбоводном пункте «Рахтынья» в октябре-ноябре 2009 г. Материалом служили зрелые половые продукты самцов тугуна, речной пеляди, сига-пыжьяна и чира. Концентрацию спермиев определяли при изучении объёма единовременно продуцируемой порции эякулята в период массового созревания самок. Взаимосвязь концентрации спермиев и объёма эякулята рассматривали по данным двух выборок, сделанных в период массового созревания самок. Зависимость концентрации спермиев в объёме эякулята определяли для объединённых выборок. Отсутствие статистических различий концентрации спермиев и объёма эякулята в выборках позволило их объединить. Всего была оценена взаимосвязь промысловой длины

самцов, объёма продуцируемого ими эякулята и концентрации спермиев в нём для 19 самцов тугуна, 24 самцов речной пеляди, 23 самцов сига-пыжьяна и 28 самцов чира.

Тугун. В период массового созревания гонад самок у тугуна по данным двух выборок между объёмом эякулята и концентрацией спермиев в нём связь была отрицательной и статистически недостоверной ($r = -0,51 - -0,21$; $P < 0,95$; Рисунок 39). Зависимость концентрации спермиев от промысловой длины самца также была слабо отрицательной и недостоверной ($r = -0,35$; $P < 0,95$; $n = 19$; таблица 14).

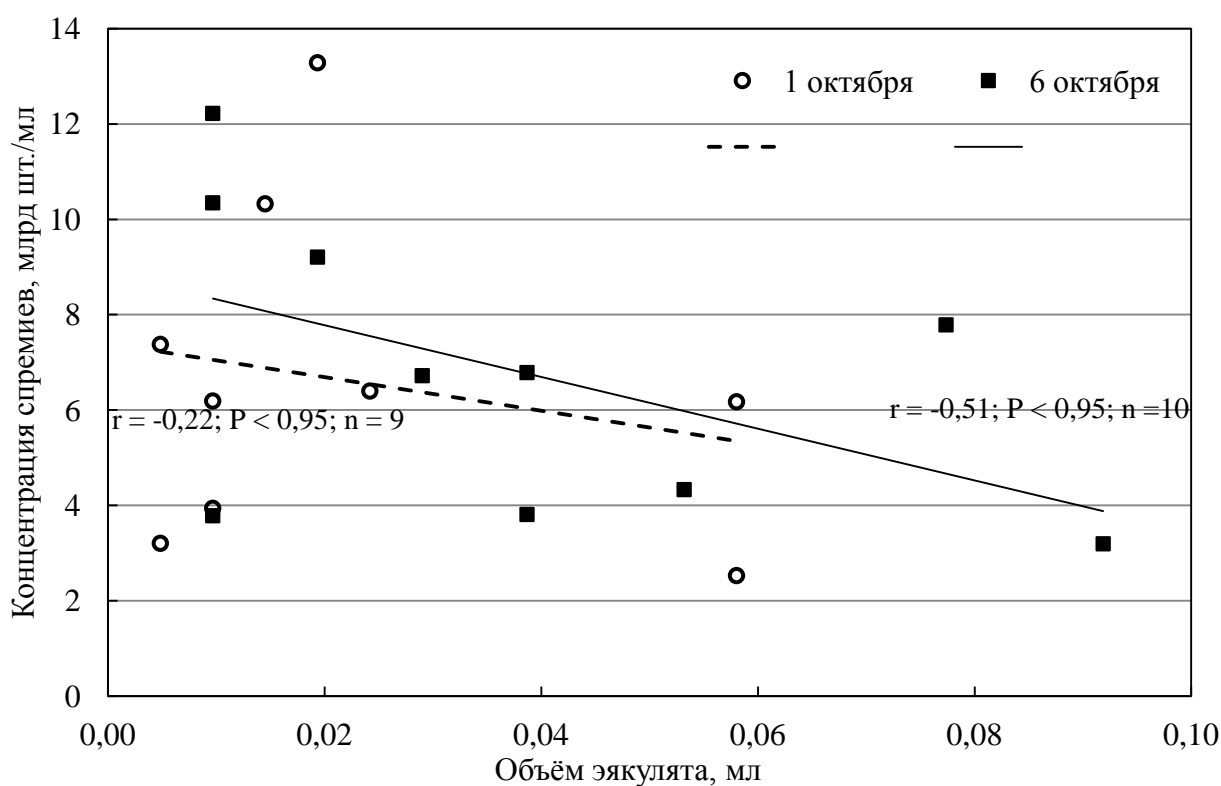


Рисунок 39 – Зависимость концентрации спермиев от объёма эякулята тугуна в период массового созревания гонад самок, 2009 г.

Таблица 14 – Результаты корреляционного анализа зависимости концентрации спермиев от объёма разовой порции эякулята и от промысловой длины самцов (Б) сиговых рыб в период массового созревания гонад самок

Вид	n	А			Б		
		r	t _ф	P	r	t _ф	P
Тугун	19	-0,28	1,21	0,773	-0,35	1,54	0,876
Речная пелядь	24	0,37	1,91	0,944	0,16	0,78	0,565
Сиг-пыжьян	23	-0,22	1,03	0,697	-0,13	0,60	0,452
Чир	28	0,07	0,36	0,281	-0,09	0,47	0,362

Речная пелядь. По данным двух выборок у речной пеляди с увеличением объёма разовой порции эякулята возрастает и концентрация спермиев (рисунок 40). Между концентрацией спермиев и длиной самцов у речной пеляди связь была также положительной, но слабой и недостоверной ($r = 0,16$; $P < 0,95$; $n = 24$; таблица 14).

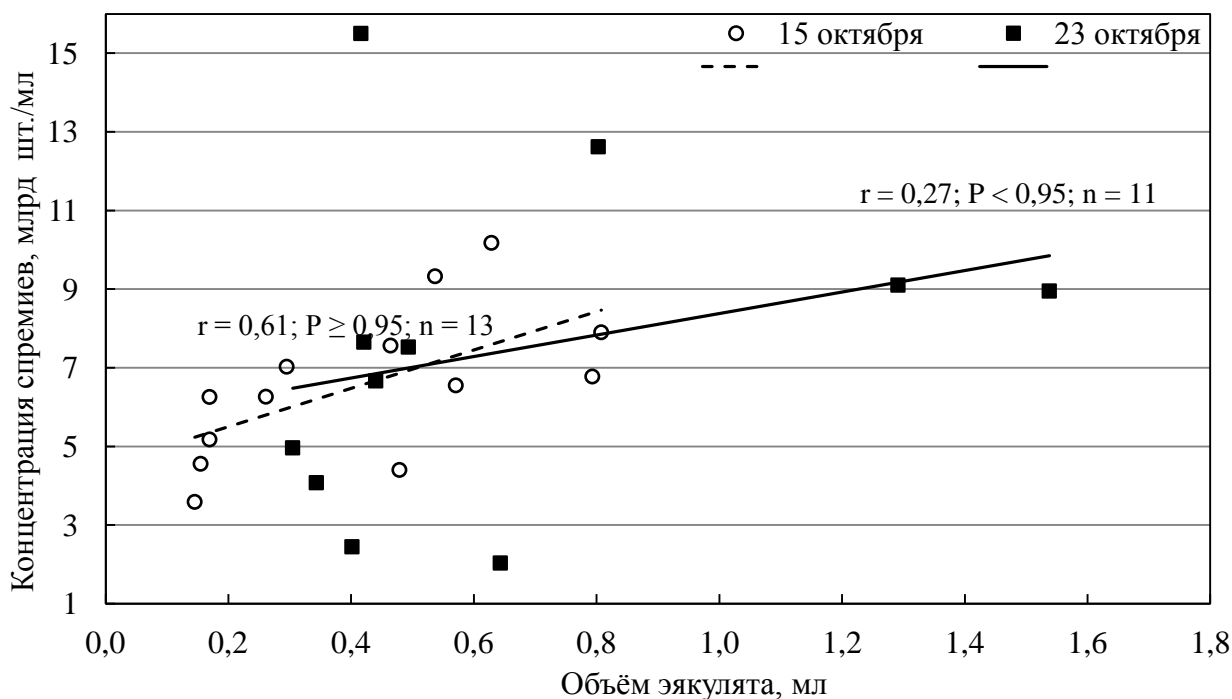


Рисунок 40 – Зависимость концентрации спермиев от объёма эякулята речной пеляди в период массового созревания гонад самок, 2009 г.

Сиг-пыжьян. У сига-пыжьяна между объёмом разовой порции эякулята и концентрацией спермиев в ней по данным выборки за 13 октября связь была отрицательной ($r = -0,43$; $P < 0,95$; $n = 12$; рисунок 41). По данным выборки за 19 октября, корреляция между объёмом эякулята и концентрацией спермиев была слабо положительной при значении коэффициента $0,14$ ($P < 0,95$; $n = 11$). Корреляция в обеих выборках была недостоверной. Влияние длины самцов на концентрацию спермиев было слабо выражено ($r = -0,13$; $P < 0,95$; $n = 23$; таблица 14).

Чир. В обеих выборках концентрация спермиев чира от объёма эякулята зависела слабо. Так, в первой выборке между концентрацией спермиев и объёмом эякулята коэффициент корреляции составлял $0,02$ ($P < 0,95$; $n = 12$), во

второй – $-0,12$ ($P < 0,95$; $n = 26$; рисунок 42). Длина самцов также не влияла на концентрацию спермиев в эякуляте ($r = -0,09$; $P < 0,95$; $n = 28$; таблица 14).

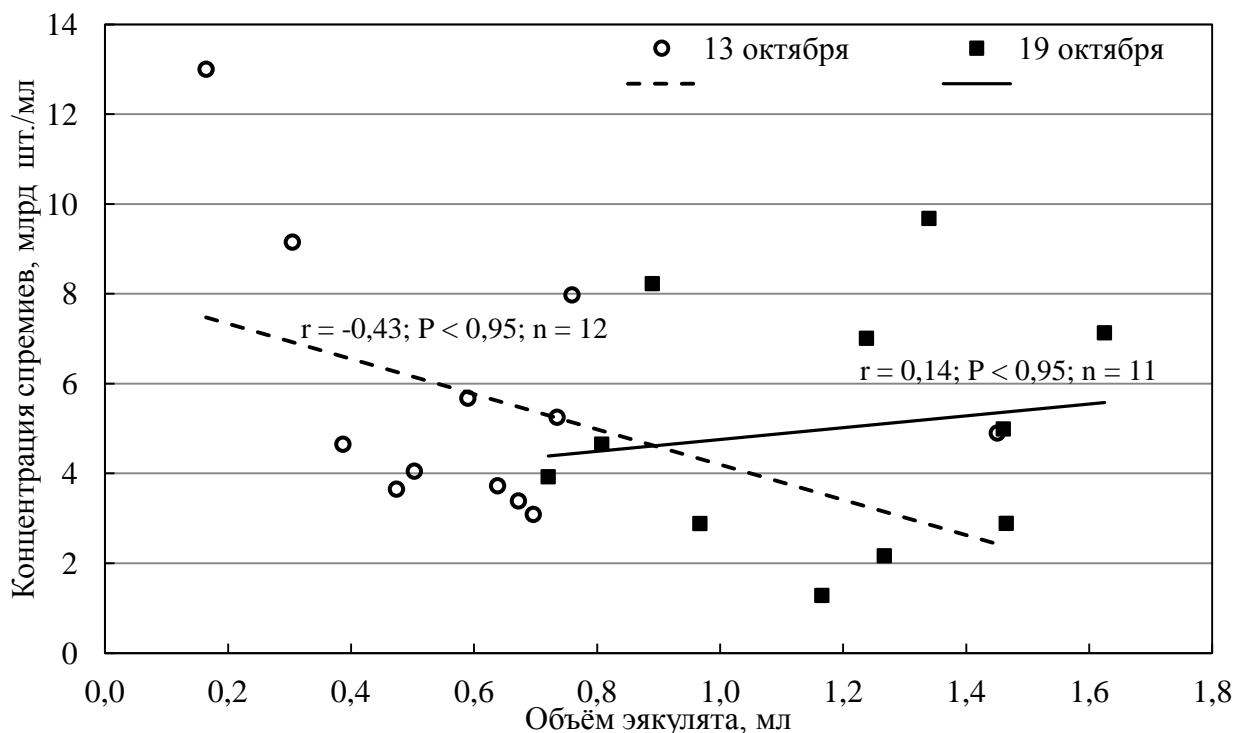


Рисунок 41 – Зависимость концентрации спермиев от объёма эякулята сига-пыжьяна в период массового созревания гонад самок, 2009 г.

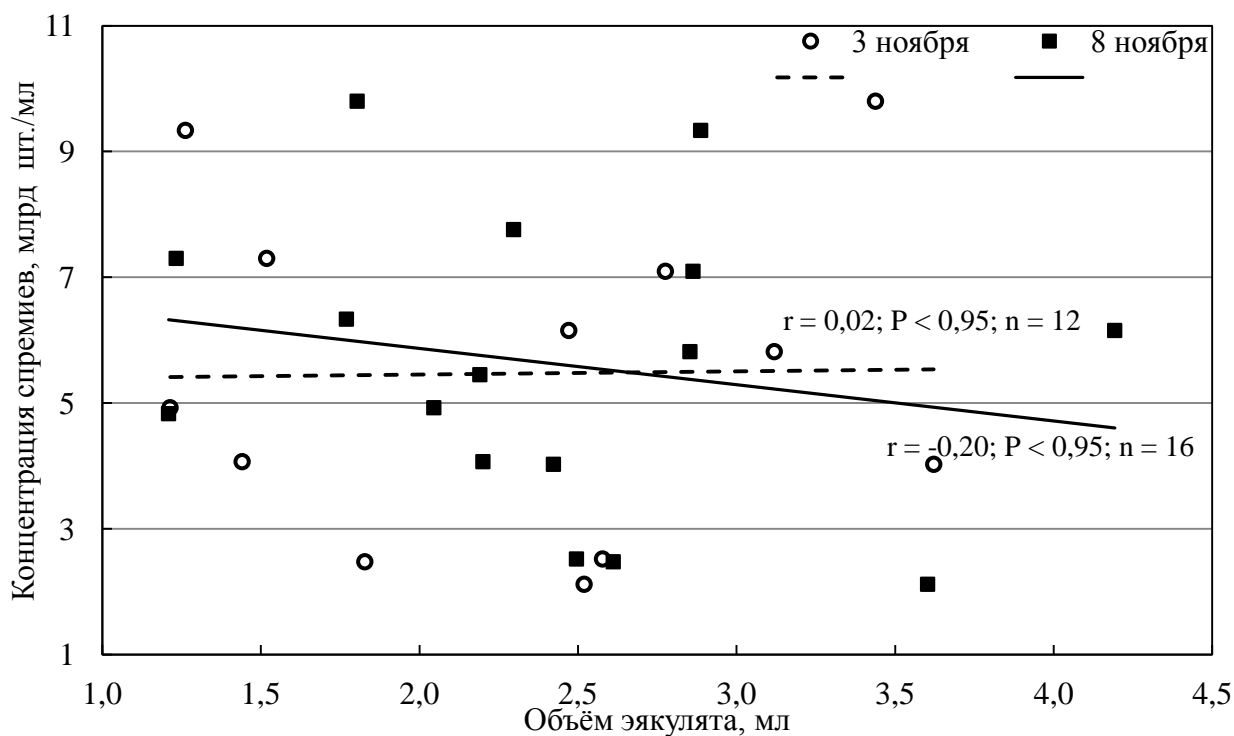


Рисунок 42 – Зависимость концентрации спермиев от объёма эякулята чира в период массового созревания гонад самок, 2009 г.

По данным Г.В. Ефанова [14], между массой самцов ендырьской пеляди и концентрацией спермиев в эякуляте наблюдается статистически достоверная зависимость, но для четырёхлетних рыб зависимость отрицательная, а для пятилетних – положительная. Влияния объёма единовременно продуцируемой порции эякулята на концентрацию спермиев в нём автором не было обнаружено.

В период массового созревания самок у исследованных сиговых рыб достоверной зависимости концентрации спермиев от объёма эякулята не наблюдалось. Как и следовало ожидать, длина самцов не влияла на концентрацию спермиев в продуцируемом ими эякуляте.

2.2.7 Разовая и общая продукция спермиев

Исходя из полученных данных об объёме эякулята и концентрации спермиев в нём, были сделаны расчёты разовой и общей продукции спермиев самцами сиговых за нерестовый период. Разовую продукцию спермиев вычисляли как произведение единовременно продуцируемой порции эякулята и концентрации спермиев в ней в период массового созревания гонад самок. Разовая продукция определялась для каждого исследуемого самца отдельно. Общую продукцию определяли с учётом динамики объёма эякулята и концентрации спермиев в нём.

Как и следовало ожидать, в период массового созревания гонад самок наименьшая разовая продукция спермиев наблюдалась у тугуна и составляла в среднем $0,14 \pm 0,02$ млрд шт. (таблица 15). Речная пелядь и сиг-пыжьян продуцировали примерно равное количество спермиев – $3,13 \pm 0,50$ и $2,94 \pm 0,41$ млрд шт. за одно сцеживание соответственно. Максимальную среди исследованных сиговых рыб разовую порцию спермиев продуцировал чир – $10,86$ млрд шт.

Среднее значение общей продукции спермиев за исследуемый период самцов тугуна, исходя из полученных данных, составляла около 3 млрд шт.,

речной пеляди – 60 млрд шт., сига-пыжьяна – 80 млрд шт., чира – 210 млрд шт.

Таблица 15 – Разовая продукция спермиев (млрд шт.) сиговых рыб в период массового нереста 2009 г.

Вид	Статистические характеристики					
	п, экз.	$X_{cp} \pm m_x$	min	max	$\pm\sigma$	CV, %
Тугун	27	0,14±0,02	0,01	0,60	0,12	89
Речная пелядь	24	3,13±0,50	0,09	13,76	3,23	103
Сиг-пыжьян	25	2,94±0,41	0,08	12,96	2,84	96
Чир	21	10,86±1,13	1,41	33,69	7,38	68

Необходимо отметить, что в эякуляте всех исследованных сиговых рыб доля живых спермиев составляет более 95% на протяжении всего периода исследования.

Глава 3 Оплодотворение, функциональные особенности половых продуктов

3.1 Функциональные особенности яиц

3.1.1 Продолжительность контакта яиц спермы, обеспечивающее эффективное оплодотворение

В методических указаний по сбору икры сиговых рыб на рыбоводных пунктах предусматривается после отцеживания половых продуктов в ёмкость их отстаивание в течение некоторого времени [1, 5, 7, 9, 98, 99, 100]. В целом, рекомендуется оставлять смесь половых продуктов без воды в течение 4 – 10 мин, и дополнительно 3 – 7 мин с водой. По мнению данных авторов, такой интервал времени при промышленном сборе икры должен обеспечивать оплодотворение всех овулировавших яиц.

Однако представленная информация не даёт возможности оценить необходимое время контакта яиц и спермы, обеспечивающее эффективное оплодотворение. Экспериментальное определение данного значения возможно за счёт инактивации спермиев через различные временные интервалы после контакта с яйцами. Ранее подобные исследования проводились Т.А. Детлаф на осетровых и А.С. Гинзбург [79, 101] на осетре, севрюге и озёрной форели. В качестве вещества для инактивации спермиев авторы использовали 0,1 и 0,2 н раствор хлористого натрия и 0,5%-ный раствор детергента «Новость», содержащий сульфозефиры цетилового и стеарилового спиртов [79]. Для сиговых рыб продолжительность контакта яиц спермы, обеспечивающее эффективное оплодотворение, не изучалось.

Цель – оценка продолжительности контакта яиц и спермы, обеспечивающей эффективное оплодотворение, после активации.

Эксперименты проводили на рыбоводном пункте «Рахтынья» в октябре 2010 г. Материалом для исследования служили зрелые половые продукты речной пеляди, сига-пыжьяна и чира. Отцеженные, не активированные водой яйца раскладывали в мешочки из крупного газ-сита по 100-150 шт. В каждом

опыте мешочек с яйцами опускали в ёмкость с водным раствором спермы, приготовленным за несколько секунд до опыта, и непрерывно покачивали из стороны в сторону – для лучшего омывания яиц раствором спермы. В опытах для каждого вида использовали сперму, полученную от трёх самцов. Объём раствора составлял 200 мл. Концентрация спермиев в растворе составляла для пеляди 24 тыс.шт./мл, для сига-пыжьяна и чира – 25 и 187 тыс.шт./мл соответственно. Через определённый интервал времени мешочек погружали в ёмкость с 20% раствором NaCl, выполняющим роль инактиватора движения спермиев. Время нахождения яиц во втором растворе составляло 5 с. Ранее авторами было экспериментально установлено, что при такой концентрации поваренной соли происходит моментальное обездвиживание спермиев сиговых, а пятисекундная экспозиция не оказывает повреждающего воздействия на яйца. Затем мешочек с яйцами поласкали в ёмкости с чистой водой в течение 10 с и переносили в чашки Петри для последующего развития. Длительность нахождения яиц в растворе спермы последовательно увеличивали в опытах с речной пелядью и сигом-пыжьяном от 5 до 120 с, с чиром – от 10 до 60 с. Температура воды в опытах составляла 0,5-1,0°C. В последующем оценивали оплодотворяемость яиц в каждом опыте. Всего было проведено с каждым видом по одной серии, включающих 18 опытов.

При минимальной экспозиции в опытах с речной пелядью и сигом-пыжьяном в 5 с оплодотворяемость яиц в среднем составляла 68%, при экспозиции 10 с – 80%. Через 30 с после контакта с раствором спермы оплодотворяемость увеличилась до 97-98%. Оплодотворяемость яиц чира уже при минимальной экспозиции в 10 с составила 94%. Через 20 с контакта икры с раствором спермы оплодотворяемость увеличилась до 99%, через 60 с – до 100% (рисунок 43). Процесс слияния гамет протекает интенсивно. Основная часть яиц оплодотворяется в течение первых 10 с после контакта яиц и спермы. Аналогичные значения были получены А.С. Гинзбург [79]. По данным автора, для того, чтобы у всех способных к оплодотворению яиц форели

осуществился контакт со спермиями требуется 3-6 с, у севрюги и осетра 10-15 с.

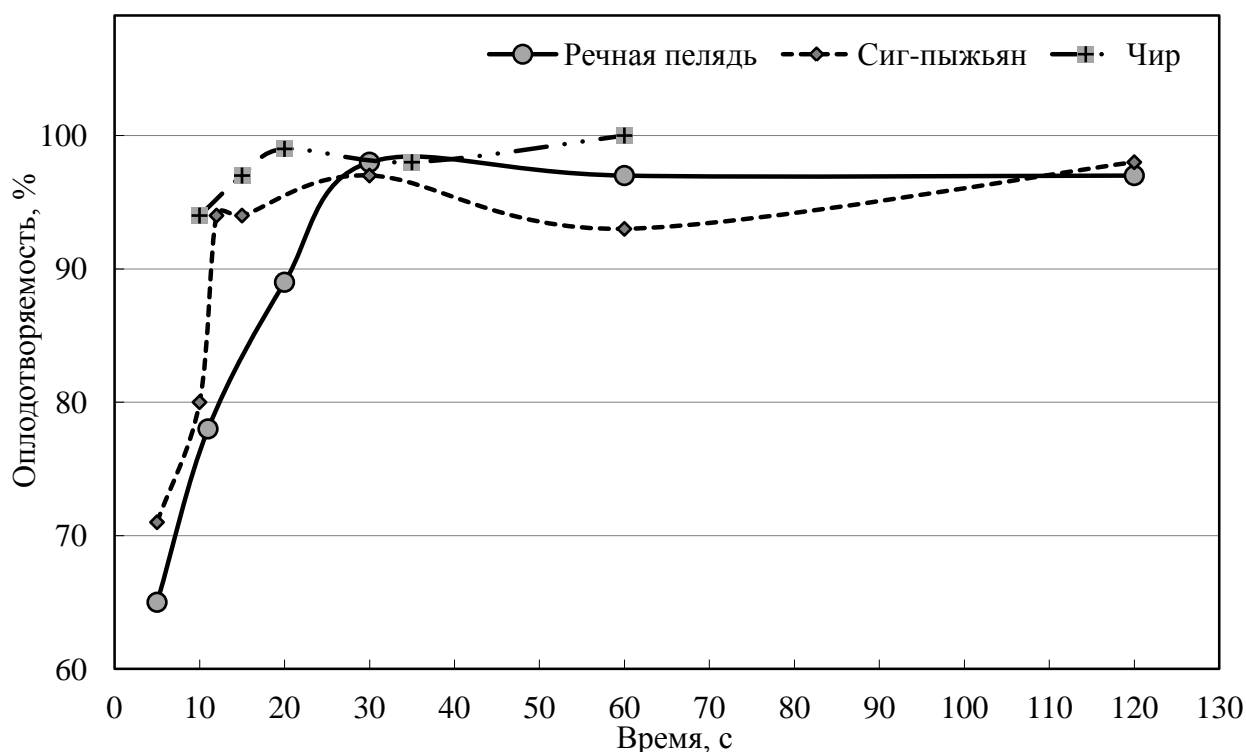


Рисунок 43 – Зависимость оплодотворяемости яиц от длительности контакта с активированными водой спермиями

Таким образом, для завершения процесса оплодотворения всех нормальных яиц требуется менее минуты.

3.1.2 Возможность оплодотворения яиц в овариальной жидкости

Спермии сиговых, активируются не только при контакте с водой, но и с овариальной жидкостью от «текучих» самок. Эту особенность отмечают и другие авторы [7, 77, 79, 87, 99]. Указывается, что в овариальной жидкости спермий попадает в микропиллярный канал, но продвижение по нему обеспечивается за счёт активацией водой [99, 102]. Возникает вопрос, может ли процесс оплодотворения яиц протекать нормально в овариальной жидкости без добавления воды?

Цель – оценка возможности оплодотворения яиц в овариальной жидкости.

Первый эксперимент проводили на рыбоводном пункте «Рахтынья» в октябре 2010 г. Материалом служили зрелые половые продукты речной пеляди, сига-пыжьяна и чира. Порцию яиц с овариальной жидкостью каждого вида, отцеженную из самки, без добавления воды перемешивали со 0,1 мл спермой от нескольких самцов. Через 60 с яйца, смешанные со спермой, помещали на 5 с в 20% раствор NaCl. После солевого раствора яйца промывали чистой водой и размещали в чашках Петри для дальнейшего развития. Температура воды в опытах составляла 1,0°C. Количество яиц в опыте с речной пелядью составляло 295 шт., с сигом-пыжьяном и чиром – 266 и 210 шт. соответственно.

Для подтверждения возможности оплодотворения яиц в промышленных условиях в овариальной жидкости был проведён второй эксперимент на рыбоводном пункте «Рахтынья» в 2014 г. Материалом служили половые продукты речной пеляди. Согласно методическим рекомендациям [9] в один таз было отцежено около 1 кг яиц от 15 самок речной пеляди. Затем яйца в тазу перемешали пером, изъяли две порции и поместили в отдельные ёмкости. Количество яиц в одной порции составляло 3-4 тыс. экз. Далее каждая порция и основная часть яиц в тазу были осеменены сухим способом смесью спермы от 7 самцов. Манипуляции с первой порцией яиц проводили согласно рекомендациям [98, 99] по следующей схеме: перемешивание яиц и спермы в течение 10 с → отстаивание смеси яиц и спермы в течение 4 мин → добавление воды (активация) → перемешивание яиц, спермы и воды в течение 10 с → отстаивание смеси яиц, спермы и воды в течение 4 мин → промывание яиц водой → оводнение. Вторую порцию яиц перемешивали пером со спермой в течение 10 с, активировали водой и сразу промывали. В тазу яйца после осеменения перемешивали, активировали водой и начинали промывать через 5 мин [9].

По данным первого эксперимента оплодотворяемость яиц в опыте с речной пелядью составила 90%, с сигом-пыжьяном и чиром – 95 и 97% соответ-

ственно. Следовательно, яйца способны оплодотворяться в овариальной жидкости без добавления воды.

Возможность оплодотворения икры при промышленном сборе после перемешивания яиц со спермой до добавления воды была подтверждена во второй части опыта. По результатам второго эксперимента, оплодотворяемость яиц в первой порции составила 90%, во второй – 92%, в тазу – 90%. Следовательно, отсутствие периода выдерживания половых продуктов отрицательно не влияет на оплодотворяемость яиц.

На практике было подтверждено, что яйца сиговых рыб способны оплодотворяться сразу после перемешивания в тазу. При сборе икры в случае возникновения необходимости возможно сокращение периода выдерживания смеси половых продуктов до и после активации.

3.1.3 Влияние возраста самок на оплодотворяемость яиц

При получении икры от маточных стад, выращенных в промышленных условиях, рекомендуют учитывать возраст производителей. Некоторые авторы указывают на низкую оплодотворяемость яиц, взятых от впервые нерестующих и от «старых» самок [4, 100, 103, 104]. Следовательно, возраст самок влияет на оплодотворяемость яиц. Данные о зависимости оплодотворяемости яиц от возраста самок сиговых рыб из естественных популяций в литературе не представлены.

Цель – оценить зависимость оплодотворяемости яиц от возраста самок из естественных популяций.

Работа выполнялась на рыбоводном пункте «Рахтынья» в 2013 г. Материалом служили самки речной пеляди и их половые продукты. На момент проведения опыта, гонады всех исследованных самок находились на V стадии зрелости. От каждой самки путём отцеживания получали порцию яиц, состоящую из 300-500 шт. Яйца осеменяли сухим способом смесью спермы от 3-4 самцов. Самцов выбирали по случайному принципу. Для каждой самки

определяли промышленную длину и возраст. Всего было использовано 20 самок.

Промышленная длина самок находилась в интервале 22,5-37,5 см при среднем значении $28,5 \pm 1,0$ см. Средний возраст составлял 7,2 года в диапазоне от 5+ до 10+. Оплодотворяемость яиц большинства самок находилась в интервале 93-99%. Только у двух самок в возрасте 6+ и 8+ оплодотворяемость яиц составляла 86 и 81% соответственно (рисунок 44).

Между оплодотворяемостью яиц и возрастом самок обнаружена слабая отрицательная и статистически недостоверная связь ($r = -0,11$; $P < 0,95$; $n = 20$).

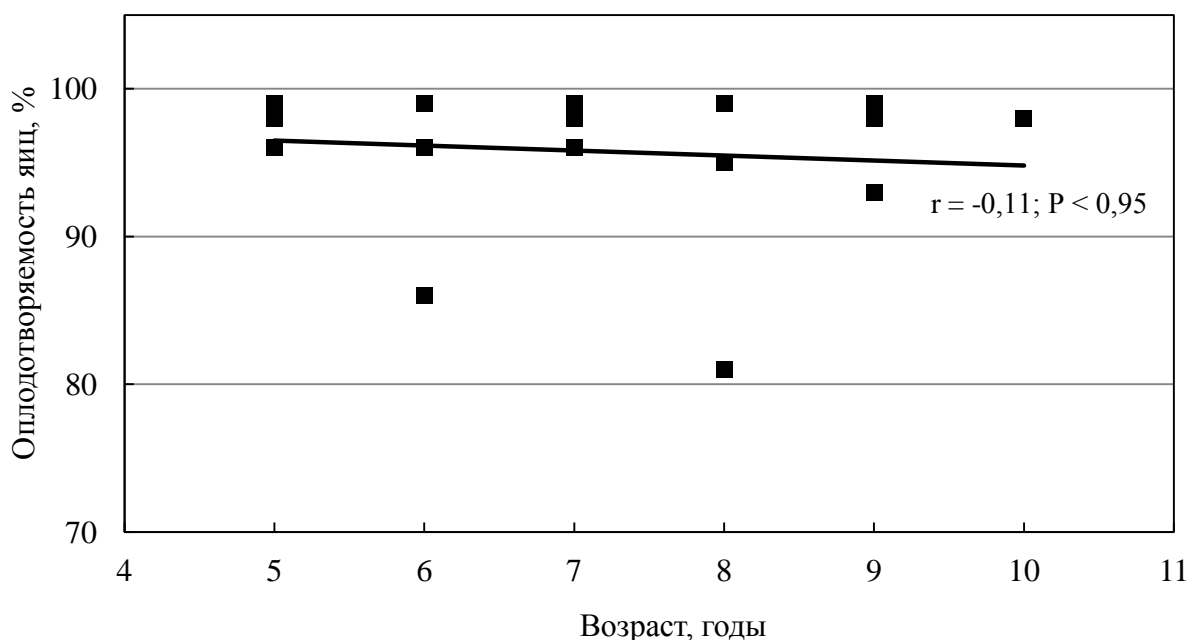


Рисунок 44 – Взаимосвязь оплодотворяемости яиц и возраста самок

Даже, если из выборки убрать две точки (81 и 86%), то корреляция между возрастом и оплодотворяемостью яиц останется слабо отрицательной и недостоверной ($r = -0,28$; $P < 0,95$).

Таким образом, с увеличением возраста самки возможно незначительное снижение оплодотворяемости яиц. Тем не менее, качество яиц у самок из естественных популяций с увеличением возраста остаётся на высоком уровне – оплодотворяемость яиц выше 95%.

3.1.4 Динамика оплодотворяемости яиц после активации водой

Для корректного применения биотехнических приёмов при сборе икры рыб для рыбоводных целей необходимо учитывать функциональные закономерности первых взаимодействий половых клеток с внешней средой. Первый контакт с водой активирует овулировавшие яйцеклетки и запускает механизм оплодотворения [79]. Для обеспечения высокой эффективности оплодотворения яиц, в частности, важно знать как меняется способность попавшего в воду яйца к оплодотворению (фертильность) во времени и в течение какого периода возможно оплодотворение активированной яйцеклетки.

В отличие от лососевых *Salmonidae*, осетровых *Acipenseridae*, карповых *Cyprinidae* и окунёвых *Percidae* рыб [48, 79, 105, 106], сведения о динамике оплодотворяемости половых продуктов сиговых крайне скудны [107], а для большинства видов из этого семейства, являющихся объектами массового искусственного воспроизводства, такая важная информация полностью отсутствует.

Цель исследования – изучение динамики оплодотворяемости овулировавших яиц после их активации водой.

Эксперименты проводились на рыбоводном пункте «Рахтынья» в октябре 2010 г. Материалом для исследования служили овулировавшие яйца речной пеляди, сига-пыжьяна, чира. Для изучения динамики оплодотворяемости яиц речной пеляди и сига-пыжьяна было проведено по одной серии опытов при температуре воды 3,3°C, с яйцами чира – две серии опытов при температуре 1,5°C. Выбранные температуры опытов соответствуют технологической норме при сборе яиц [9]. В каждой серии яйца от одной полноценной самки насухо отцеживали в ёмкость, заливали её водой и регистрировали время активации. Затем, через определённые промежутки времени из ёмкости набирали по 100-150 яиц, помещали их в чашку Петри и осеменяли порцией неактивированной спермы, полученной от трёх полноценных самцов. В каждом опыте промежуток времени с момента активации до момента осеменения яиц последовательно нарастал. Интервалы между опытами в начале серии равня-

лись 0,5 мин. К концу серии они увеличивались до 5 мин. В качестве контроля служили яйца, перемешанные со спермой до добавления воды и затем активированные (яйца осеменённые сухим способом). Оплодотворяемость яиц в контроле составила 99%.

Результаты исследований показали, что способность яиц исследованных сиговых рыб к оплодотворению после попадания в воду быстро снижается. Кривая оплодотворяемости яиц сиговых рыб после активации водой имеет «S-образный» вид (рисунок 45). Оплодотворяемость яиц речной пеляди на уровне контроля наблюдалась только в первую минуту после контакта с водой. Уже через две минуты после активации доля оплодотворённых яиц составляла всего 31%. Доля оплодотворённых яиц на уровне 12-16% сохранялась с 3 по 15 мин после активации. Через 20 мин наблюдалось единичное оплодотворение яиц, через 25 мин после контакта с водой оплодотворённых яиц в пробе не обнаруживалось.

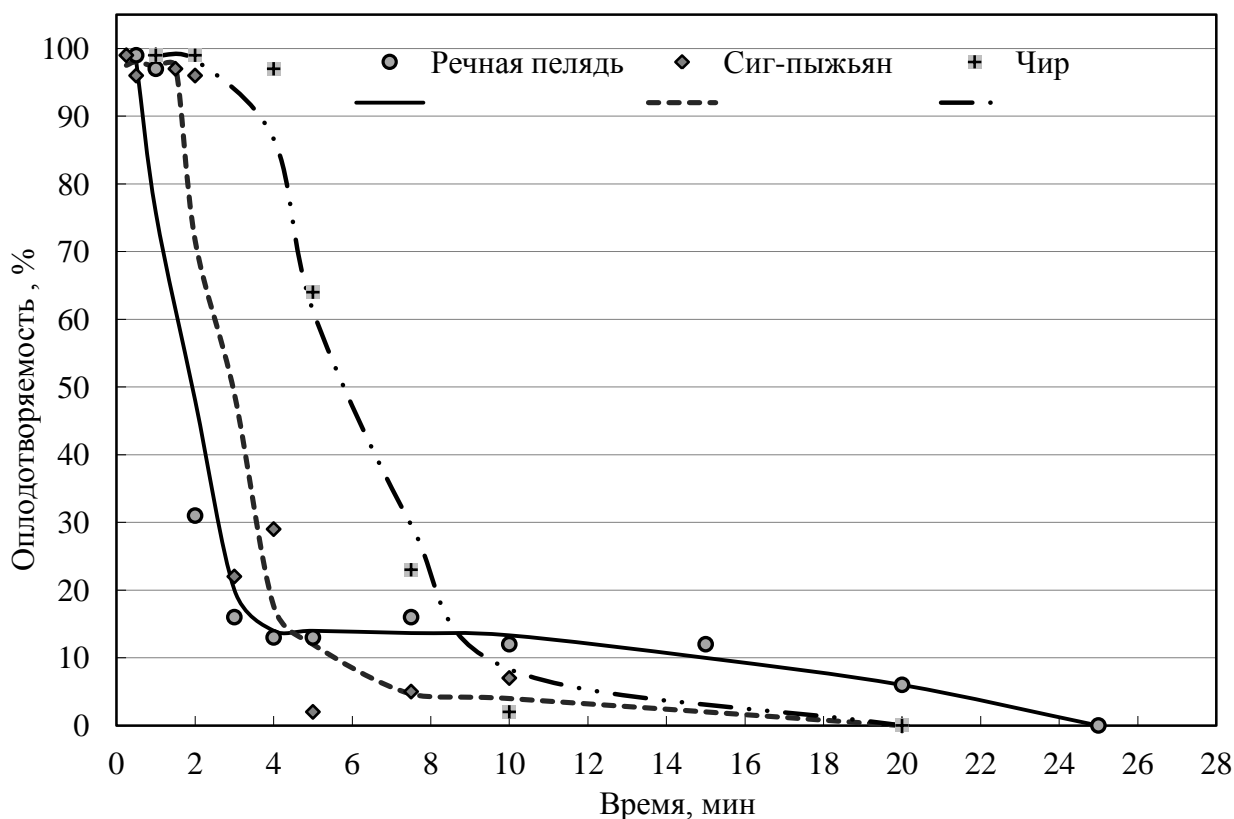


Рисунок 45 – Динамика оплодотворяемости яиц сиговых рыб после активации водой. Температура воды в опытах с речной пелядью и сигом-пыжьяном – 3,3°С; с чиром – 1,5°С. Линии получены «сглаживанием» результатов опытов арифметической скользящей средней

У сига-пыжьяна оплодотворяемость яиц после активации на уровне контроля сохранялась в первые две минуты. После трёхминутного пребывания яиц в воде оплодотворяемость составляла только 22%. Через 5 мин средняя доля оплодотворённых яиц составляла 5%, через 20 мин оплодотворённых яиц не наблюдалось.

У чира динамика снижения оплодотворяемости яиц в двух сериях оказалась сходной и данные были осреднены. В первые четыре минуты оплодотворяемость яиц находилась на уровне контроля. Резкое уменьшение оплодотворяемости до 64% происходило после пятиминутного контакта с водой. Через 10 мин после активации наблюдалось только единичное оплодотворение яиц. Яйца чира полностью теряли способность к оплодотворению через 15 мин.

Оплодотворяемость яиц речной пеляди и сига-пыжьяна после контакта с водой в первые пять минут снижается в 2,5-3,0 раза быстрее, чем у яиц чира. Температура воды в опытах с первыми двумя видами была выше на 1,8°C. Не исключено, что отличия в динамике оплодотворяемости яиц чира не носят видоспецифический характер, а связаны с более низкой температурой опытов. Для окончательного вывода по этому вопросу требуются дополнительные опыты.

Таким образом, максимальная способность яиц к оплодотворению при температуре воды 3,3°C сохраняется у речной пеляди в течении первой минуты, у сига пыжьяна – в течение двух минут, у чира при температуре 1,5°C – в течение первых четырёх минут после активации водой.

3.1.5 Изменение оплодотворяемости яиц в течение V стадии зрелости гонад самок

При выдерживании сиговых в садках, самки после наступления V стадии зрелости, как правило, «сбрасывают» яйца через 3-5 суток [2]. Задержка яиц в полости тела самки до конца этого периода приводит к их «перезреванию», что снижает способность ооцитов к оплодотворению и приводит к

массовым аномалиям при последующем развитии зародышей [108, 109]. Кроме того, перезревшие яйца неправильно или не полностью оводняются, уменьшается прочность оболочек, что также снижает «рыбоводное» качество яиц. При перезревании увеличивается количество овариальной жидкости в полости самок. Поэтому технологический процесс предусматривает регулярные сортировки выдерживаемых самок с целью своевременного выявления «текучих» особей и их использования для получения яиц.

Цель – оценить продолжительность периода V стадии (с момента перехода с IV стадии), в течение которого не происходит ухудшения качества яиц у сиговых рыб.

Материалом служили самки речной пеляди, сига-пыжьяна, чира и их половые продукты. Работы проводились в октябре-ноябре 2011 г. на рыбноводном пункте «Рахтынья». Две опытные самки каждого вида были отсажены в отдельный делевый садок. Гонады самок на момент начала наблюдений находились в конце IV стадии зрелости. После зафиксированного перехода яичников на V стадию зрелости из самок ежедневно отцеживали порцию яиц по 150-200 шт. Осеменение яиц проводили смесью спермы от нескольких самцов.

Опыт с самками речной пеляди и сига-пыжьяна проводился дважды: с 13 по 17 октября при температуре воды в садке 4,0°C и с 2 по 7 ноября. Темпер. Опыт с самками чира продолжался в течение 9 дней с 30 октября по 7 ноября. Температура воды в садке составляла 1,2°C.

Речная пелядь. В период с 13 по 17 октября у самок речной пеляди в течение двух дней с момента переход гонад на V стадию зрелости оплодотворяемость яиц составляла 93-99%. Через два дня первая самка уже «сбросила» яйца, а оплодотворяемость яиц у второй самки упала до 55%. «Сбрасывание» яиц у второй самки произошло на третьи сутки после перехода гонад на V стадию зрелости (рисунок 46).

В период со 2 по 7 ноября при температуре воды 1,2°C после перехода гонады самок на V стадию зрелости оплодотворяемость яиц на уровне 95-99% сохранялась в течение 4 дней. На 5 день опыта самки «сбросили» яйца.

Сиг-пыжьян. При температуре воды 4,0°C яйца сига-пыжьяна сохраняли способность к оплодотворению после перехода гонады самки на V стадию зрелости незначительно дольше, чем у речной пеляди. Так, у первой самки оплодотворяемость яиц на уровне 90-96% сохранялась в течение первых 3 дней опыта. Оплодотворяемость яиц до 76% снизилась на 4 день, «сбрасывание» яиц самкой произошло только на 5 день опыта. Оплодотворяемость яиц у второй самки на уровне 94-98% оставалась в течение 2 дней опыта. Снижение оплодотворяемости до 71% наблюдалось на 3 день. Через 4 дня после начала опыта вторая самка сига-пыжьяна яйца «сбросила» (рисунок 46).

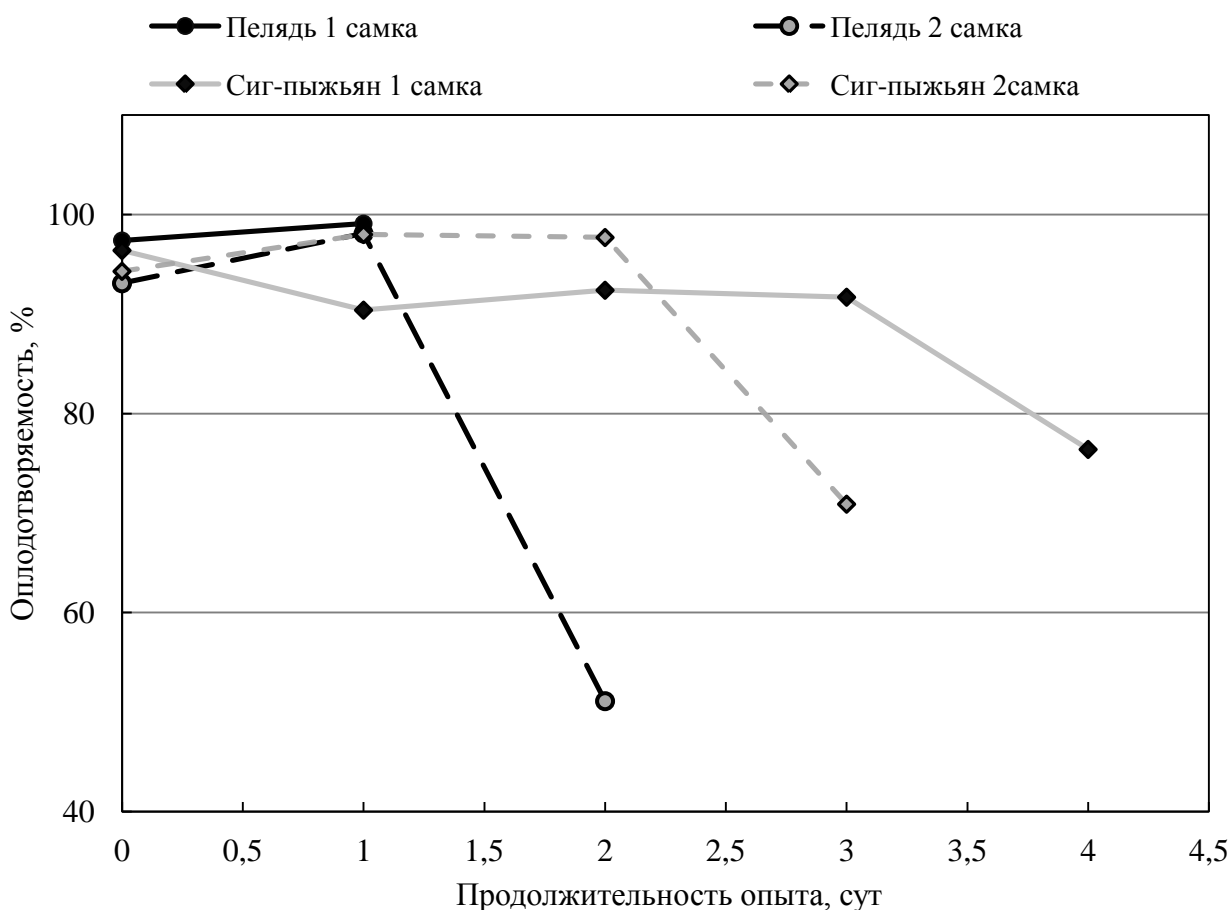


Рисунок 46 – Динамика оплодотворяемости яиц речной пеляди и сига-пыжьяна с момента перехода гонад самок на V стадию развития при температуре 4,0°C

В период с 2 по 7 ноября при температуре воды 1,2°C оплодотворяемость яиц у самок сига-пыжьяна на уровне 94-99% сохранялась в течение 4 дней после перехода гонады самки на V стадию зрелости. На следующий день опыта самки «сбросили» яйца.

Чир. Оплодотворяемость яиц в первые пять дней у обеих самок составляла 98-100%. В последующие двое суток оплодотворяемость яиц у первой самки составляла 95-96%, у второй – 97%. На 8 сутки оплодотворяемость яиц у первой самки снизилась до 87%. У второй самки на 8 сутки опыта в пробе было только 49% оплодотворённых яиц, 30% имели аномальное развитие и 21% были неоплодотворёнными (рисунок 47). Дальнейшее проведение опыта было невозможно по техническим причинам.

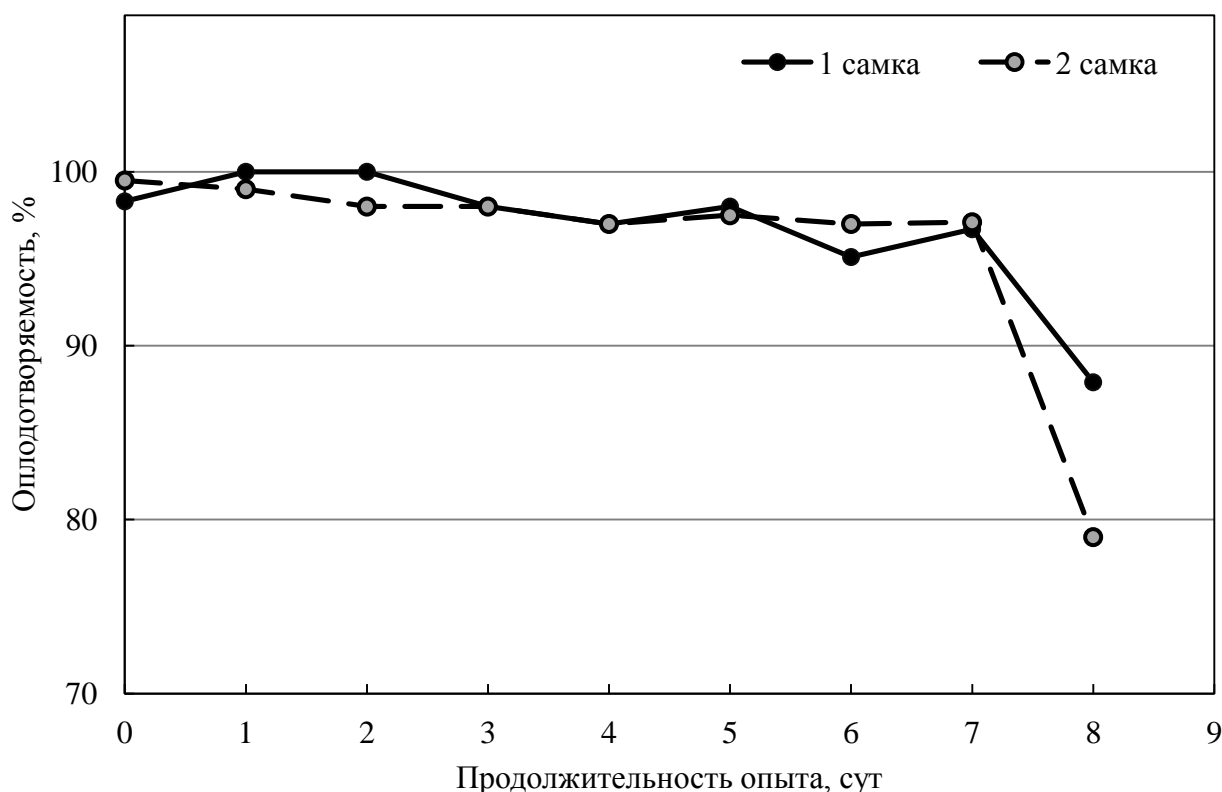


Рисунок 47 – Динамика оплодотворяемости яиц чира с момента перехода гонад самок на V стадию развития при температуре 1,2°C

Следовательно, при 4,0°C продолжительность периода V стадии развития гонад, в течение которого не происходит ухудшения качества яиц у речной пеляди и сига-пыжьяна составляет не менее двух суток. При снижении

температуры до 1,2°C продолжительность изучаемого периода увеличивается до четырёх суток. У чира при температуре 1,2°C высокое качество яиц сохраняется в течение 7 суток. Дальнейшее выдерживание «текучих» самок приводит к резкому снижению оплодотворяемости яиц.

Таким образом, при выдерживании в садках самок речной пеляди, сига-пыжьяна и чира при температуре 4°C и ниже сортировку целесообразно проводить не ежедневно [110], а через сутки для уменьшения травмирования производителей.

3.1.6 Зависимость оплодотворяемости яиц от продолжительности хранения

В рыбоводной практике периодически возникает потребность в хранении яиц рыб. Принципиальная возможность относительно кратковременного хранения половых продуктов позволяет их транспортировать до момента оплодотворения, а также получать оплодотворённые яйца при индивидуальной асинхронности «созревания» самцов и самок в случае дефицита производителей. Поэтому изучение взаимосвязи оплодотворяемости овулировавших яиц с продолжительностью их хранения имеет как научный, так и практический интерес.

В производственном процессе чаще рыбоводы сталкиваются с необходимостью хранения яиц, чем спермы. Это связано с тем, что у сиговых при продолжении выдерживания самок после перехода гонад на V стадию зрелости яйца способна к эффективному оплодотворению в течение всего 3-5 суток [2]. Кроме того, как было показано в главе 2.1.5, у большинства видов этого семейства из отечественной ихтиофауны происходит неконтролируемое вытекание овулировавших яиц через несколько суток после овуляции. Хранение яиц в снулой или умерщвлённой самке возможно только в течение нескольких часов [111]. Поэтому сохранение овулировавших яиц для последующих рыбоводных работ необходимо проводить вне тела самки в сопутствующей овариальной жидкости.

Таким образом, для оптимизации технологии хранения и транспортировки рыб необходимо выяснить, как долго половые продукты сиговых рыб сохраняют способность к оплодотворению после их получения. Ранее хранение половых продуктов самок чира, речной и озёрной пеляди после их сбора частично рассматривалось Л.В. Кугаевской [7]. Продолжительность хранения яиц сиговых в теле умерщвлённых рыб подробно изучалась А.Н. Кузьминым [111].

Цель – выявить зависимость оплодотворяемости яиц сиговых рыб от продолжительности их хранения во влажной воздушной среде при слабоположительной температуре.

Материалом для исследования служили овулировавшие яйца речной пеляди. Опыты проводили в октябре 2013 г. на рыбоводном пункте «Рахтынья» во время массового нереста. С яйцами речной пеляди выполнено три экспериментальных серии, включающих 28 опытов. В каждой серии использовали яйца, отцеженные от одной самки с гонадами на V стадии зрелости. Около 2000 яиц от каждой самки с сопутствующей овариальной жидкостью помещали в один слой в отдельную сухую чашку Петри, в которой проходило их дальнейшее хранение в изотермическом ящике при температуре 0,5-1,0°C. Температуру измеряли при помощи электронного термометра с выносным датчиком с точностью 0,1°C. Об изменении оплодотворяемости хранящихся яиц судили по доле нормально развивающихся яиц в пробе с известной продолжительностью хранения. Для этого с интервалом в одни сутки из чашки изымали по 200 яиц и осеменяли сухим способом смесью свежей спермы от 4-7 самцов. Объём спермы, используемой в каждом опыте, равнялся 0,1 мл. Температура воды, добавляемой при активации яиц, составляла 0,5-1,0°C; используемой для оводнения – 0,5-3,0°C. Первая проба отбиралась непосредственно перед размещением яиц на хранение и служила контролем их первоначального качества. В связи с тем, что оплодотворяемость яиц в контроле превышала 99%, при отражении результатов опытов контрольная величина не учитывалась.

По результатам опытов, доля оплодотворённых яиц речной пеляди сразу после отцеживания из самки во всех трёх сериях была на уровне 99-100% (рисунок 48). В последующие четверо суток хранения доля оплодотворённых яиц в трёх сериях незначительно сократилась в среднем до 96%, в диапазоне 94-98%. При хранении качество яиц снижалось в каждой из серий опытов с разной интенсивностью. В частности, в первой серии опытов оплодотворяемость яиц начала существенно снижаться только через семь суток хранения и достигла 90%, что всего на 10% ниже первоначального значения. Через восемь суток хранения яйца в этой серии не оводнились и, как результат, оплодотворённые яйца в опыте не обнаружены. Во второй серии оплодотворяемость яиц через шесть суток хранения снизилась до 92%, через семь суток – до 0%. Также как и в первой серии, нулевая оплодотворяемость сопровождалась нарушением процесса оводнения яиц. В третьей серии опытов качество яиц в процессе её хранения снижалось интенсивнее, чем в двух предыдущих. Так, через пять суток хранения доля оплодотворённых яиц в опыте составляла 58%, через шесть суток – 11%. При этом, часть яиц не оводнилась. Через семь суток хранения оплодотворённых яиц в опыте не обнаружено, все яйца не оводнились. Как следует из результатов опытов, временной интервал, в течение которого яйца речной пеляди сохраняют способность к эффективному оплодотворению, составляет не менее трёх суток при температуре близкой к 0°C. Вероятно, результаты хранения на протяжении 5 – 7 сут определяются индивидуальным состоянием яиц на момент их отцеживания. Методика эксперимента не предусматривала регистрацию момента овуляции яиц у каждой из опытных самок. Поэтому не исключено, что возраст овулировавших ооцитов, отсчитываемый с момента наступления V стадии зрелости гонады, у использованных самок отличался. Это обстоятельство может объяснять наблюдаемые различия результатов в каждой из серий опытов. При хранении свыше 7 суток яйца полностью утрачивают способность к оплодотворению. Утрата способности к оплодотворению сопровождается нарушением процесса оводнения яиц. Следовательно, предварительная оценка способно-

сти нормального оводнения яиц после периода хранения может служить экспресс-тестом их оплодотворяемости перед использованием в рыбоводном процессе.

По данным Л.В. Кугаевской [7], яйца чира, речной и озёрной пеляди способны к оплодотворению на уровне контроля только первые 6-8 ч после изъятия из самки при низкой температуре хранения. Можно предположить, что такие серьёзные различия с нашими результатами объясняются различной методикой опыта. К сожалению, в работе автора условия хранения не описаны.

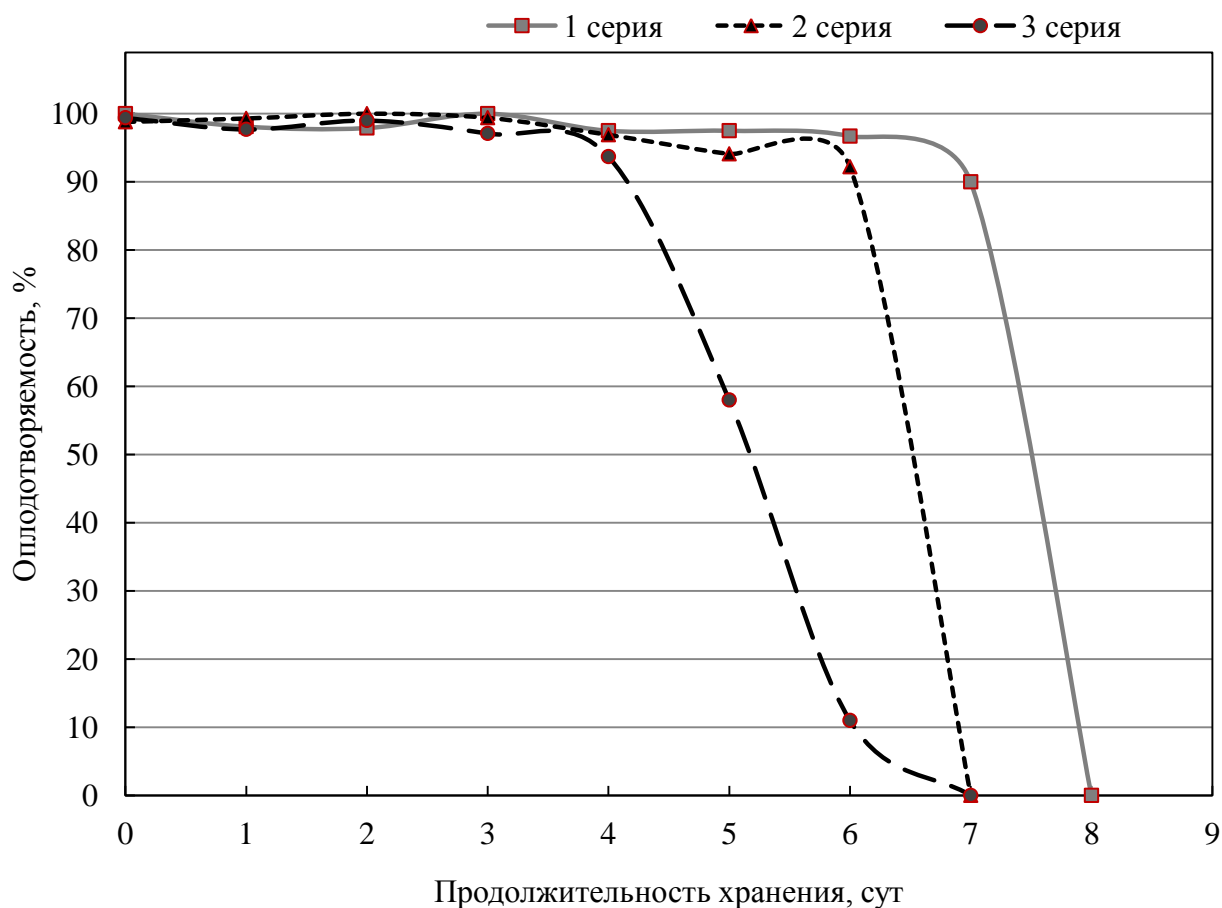


Рисунок 48 – Способность к оплодотворению икры речной формы пеляди при различных сроках хранения в овариальной жидкости при температуре 0,5-1,0°C

Анализ результатов опытов позволяет дать практические рекомендации для отработки биотехники сбора икры сиговых рыб. В частности, при необходимости, можно эффективно использовать для рыбоводных целей яйца пе-

ляди, хранящиеся в сухой посуде при температуре близкой к 0°C (например, на смоченном льду) не менее трёх суток. При использовании яиц после более длительного хранения целесообразно предварительно оценивать их способность к оводнению, т.к. снижение оплодотворяемости яиц при хранении тесно связано с нарушением процесса их оводнения после активации.

Данные рекомендации были апробированы авторами на половых продуктах муксуна, доставленных с базы сбора «Томкатка» (р. Обь, Октябрьский р-н ХМАО) до лаборатории отдела воспроизводства рыбных запасов Госрыбцентра (г. Тюмень) в ноябре 2008 г. Овулировавшие яйца хранились во влажной воздушной среде в изотермическом ящике при температуре 0,2-1,0°C, при этом их качество не снижалось в течении 6 суток от момента сбора.

3.1.7 Зависимость продолжительности оводнения яиц от температуры

Оводнение яиц является одним из важных этапов начала эмбриогенеза рыб, влияющих на эффективность биотехники сбора икры. В процессе оводнения происходит отделение яйцевой оболочкой от желточного мешка и образование перивителлиновой полости [29]. Условия среды в период оводнения существенно влияют на такие важные физические показатели яйца, как его «конечные» размеры, масса и форма, а также объём перивителлиновой полости. Оводнение яиц тесно связано с увеличением прочности внешней оболочки [29]. В целом, процессы, протекающие на первом этапе эмбриогенеза, во многом определяют устойчивость яиц к механическим воздействиям при их транспортировке и инкубации. Оптимизация условий оводнения яиц, в том числе температурного режима, – одна из задач совершенствования биотехники сбора икры.

Процесс оводнения яиц и образования перивителлинового пространства у рыб детально рассмотрен А.И. Зотиным [29, 112]. Однако в подавляющем большинстве случаев эксперименты проводились на осетровых, окунёвых, лососевых и карповых рыбах [79, 113]. А.И. Зотиным были проведены экспе-

рименты на свирском сига [112]. Продолжительность оводнения яиц обских популяций пеляди и чира изучалась Л.В. Кугаевской [7] и А.Н. Кузьминым [114]. Но, связь продолжительности оводнения с температурой ни одним авторами не рассматривалась. Кроме того, в отдельных работах значения температуры воды в опытах не указываются.

Цель – оценка зависимости продолжительности оводнения яиц сиговых рыб Обь-Иртышского бассейна от температуры воды.

Материалом для исследования служили нефиксированные яйца сиговых рыб. Опыты по определению скорости оводнения яиц тугуна, сибирской ряпушки, речной пеляди, сига-пыжьяна, чира проводились в октябре-ноябре 2008-2010 гг. на рыбоводном пункте «Рахтынья». Скорость оводнения яиц озёрной пеляди и муксуна изучали в лаборатории отдела Госрыбцентра в 2009 г. Половые продукты озёрной пеляди были доставлены с садкового хозяйства «Волковское». Половые продукты муксуна доставлялись с рыбоводного пункта «Томкатка» (р. Обь). О процессе оводнения судили по изменению диаметра яиц после активации водой. Традиционный способ измерения диаметра яиц при помощи окуляр-микрометра микроскопа не пригоден при оценке средней величины выборки в связи со значительной динамикой этого показателя в начале оводнения. Применение фиксаторов существенно искажает размеры яиц [115, 116]. Поэтому «моментальную» оценку среднего диаметра яиц в пробе проводили по оригинальной методике. Первое измерение диаметра производили сразу после помещения яиц в воду. Кратность измерения диаметра в первый час составляла десять минут, в последующие часы – тридцать минут. Измерение диаметра яиц в одной серии опытов проводили до стабилизации показателя. Продолжительность оводнения яиц определяли как временной интервал с момента их контакта с водой до выхода кривой изменения диаметра на плато. Диапазон температуры в опытах составлял от 0,5 до 12,0°C. Для всех опытов использовалась вода из р. Ляпин. Всего было проведено 7 серий, включающих 28 опытов.

По данным Ж. А. Черняева [25] и А.И. Зотина [112], оводнение яиц сиговых начинается через 4-5 мин после попадания яйца в воду. В наших опытах первая регистрация измерения диаметра проводилась через 10 минут после попадания яиц в воду. Среднее увеличение диаметра яиц исследованных сиговых рыб за данный промежуток времени составило 8%.

Максимальная продолжительность оводнения яиц сиговых рыб отмечалась в нижнем диапазоне экспериментальных температур, соответствующему биотехнологической норме, – от 0,5 до 2,0°C, при ярко выраженной видовой специфике изучаемого показателя. Продолжительность оводнения яиц в указанном температурном интервале изменялась от 90 мин у озёрной пеляди до 260 мин у чира (таблица 16).

Таблица 16 – Диаметр неоводнённых и оводнённых яиц и продолжительность процесса оводнения

Показатель	Вид						
	Тугун	Ряпушка сибирская	Речная пелядь	Озёрная пелядь	Сиг-пыжьян	Чир	Муксун
Диаметр неоводнённой икры, мм	1,52	1,54	1,66	1,74	1,74	2,19	1,89
Диаметр оводнённой икры, мм	1,86	1,94	1,94	2,06	2,34	2,82	2,52
Увеличение диаметра, %	22	26	17	18	34	29	33
Продолжительность оводнения (0,5-2,0°C), мин	110	120	105	90	115	260	150

С повышением температуры в опытах продолжительность оводнения яиц сиговых рыб последовательно сокращалась. В частности, в интервале температур 0,5-6,0°C у тугуна продолжительность оводнения яиц уменьшилась с 110 до 70 минут, у сига-пыжьяна – от 175 до 60 мин, у ряпушки – от 120 до 70 мин. Кратность уменьшения продолжительности оводнения яиц у данных видов составила 1,6; 2,9 и 1,7 раза, соответственно. В диапазоне температур 0,5-8,0°C у пеляди продолжительность оводнения яиц уменьшалась в 1,9 раза от 105 до 55 минут для речной пеляди и от 95 до 50 мин для озёрной.

У чира в этом же температурном интервале продолжительность оводнения уменьшилась в 2,8 от 260 до 90 мин, у муксуна – в 1,9 раза от 150 до 80 мин.

Значительное сокращение продолжительности оводнения яиц происходило при повышении температуры до 3-5°C. С последующим повышением температуры продолжительность оводнения яиц существенно не изменялась (рисунок 49). Например, у озёрной пеляди продолжительность оводнения яиц при 0,5°C составила 95 мин, при 2,0°C – 60 мин, а при 4,0°C и 8,0°C – 50 мин. При температуре свыше 5°C видоспецифические отличия продолжительности оводнения яиц нивелируются и среднее время оводнения яиц у изученных видов сиговых составляет 50-70 мин.

В результате оводнения диаметр яиц сиговых рыб увеличивается вне зависимости от температуры воды от 17% у речной пеляди до 34% у сига-пыжьяна (таблица 16).

Необходимо отметить, что у сиговых рыб процесс оводнения яиц имеет жёсткую временную связь с процессом развития. Он может протекать только в первые часы после попадания овулировавшего яйца в воду. Если прервать контакт яйца с водой в период оводнения, то его нормальное набухание не завершится после вторичного погружения в воду. Такое яйцо будет иметь меньший диаметр, неразвитое перивителлиновое пространство и искажённую форму. Аналогичные нарушения отмечаются в случае оводнения яйца в ограниченном пространстве.

Таким образом, среди изученных видов сиговых Обь-Иртышского бассейна по продолжительности оводнения яиц в диапазоне биотехнологических температур 0,5-2,0°C можно выделить три группы. К первой группе относятся тугун и две формы пеляди при продолжительности оводнения яиц 1,5-2,0 ч; ко второй группе относятся сиг-пыжьян и муксун – 2,5-3,0 ч; к третьей – чир при продолжительности оводнения – 4,0 ч.

Выявленные видовые различия в продолжительности оводнения яиц необходимо учитывать при совершенствовании биотехники искусственного воспроизводства сиговых рыб.

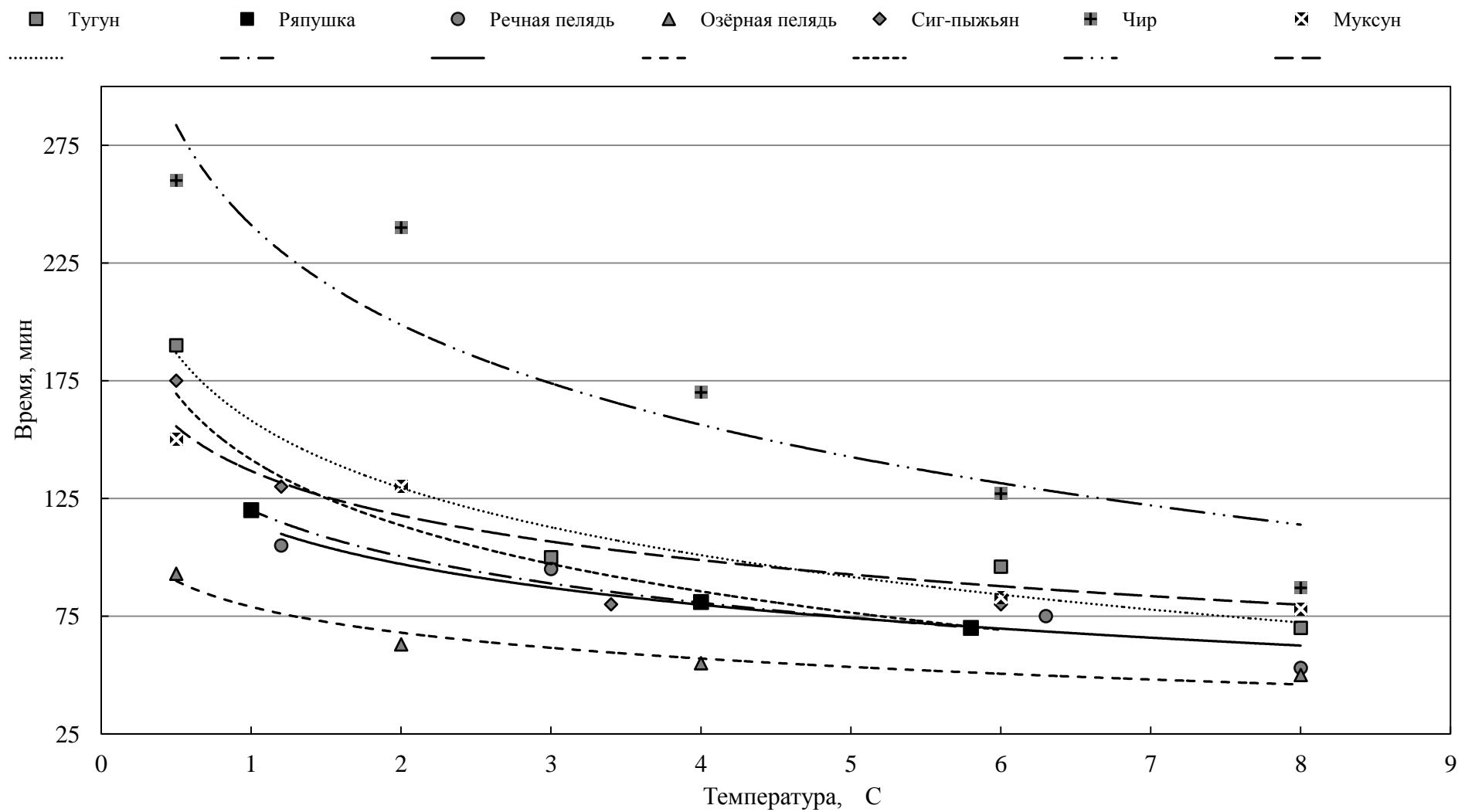


Рисунок 49 – Продолжительность оводнения яиц сиговых рыб при различной температуре

3.1.8 Динамика прочности внешней оболочки яиц

Прочность яйцевых оболочек – важный функциональный показатель яиц рыб, определяющий их устойчивость к механическим повреждениям в процессе сбора, при транспортировке и инкубации. Однако процесс изменения прочности оболочек овулировавшего яйца после активации водой у сиговых рыб изучен недостаточно. Ранее прочность внешней оболочки яиц сиговых исследовали А.И. Зотин [29, 117, 118], Л.В. Кугаевская [6, 7], Ж.А. Черняев и др. [9]. Наиболее полно динамика прочности внешней оболочки яйца была описана А.И. Зотиным [29] у свирского сига. Для сиговых Обь-Иртышского бассейна данный вопрос частично рассматривался в работах Л.В. Кугаевской [6, 7] на яйцах чира и озёрной формы пеляди. Необходимо отметить, что методика проведённых опытов была в полной мере описана только А.И. Зотиным [29], остальных работах авторы приводят исключительно результаты исследований. Таким образом, существующие литературные данные не позволяют оценить общую картину изменения прочности оболочек яиц сиговых.

Цель – изучение динамики прочности внешней оболочки овулировавших яиц сиговых рыб Обь-Иртышского бассейна после активации водой.

Материалом для исследований служили овулировавшие яйца сиговых видов рыб Обь-Иртышского бассейна в нерестовый период 2011 г. Была исследована динамика прочности оболочек яиц шести видов: ряпушки сибирской, тугуна, чира, речной формы пеляди, муксуна и сига-пыжьяна. Работы с яйцами, полученными от самок ряпушки, тугуна, чира, сига-пыжьяна и речной пеляди, проводили на рыбоводном пункте «Рахтынья»; с яйцами муксуна работы проводили в лаборатории отдела Госрыбцентра. Яйца муксуна для опытов доставляли в лабораторию в изотермическом контейнере.

Для исключения индивидуального влияния различных самок на динамику показателя овулировавшие яйца брали от одной «текучей» самки с полноценными половыми продуктами. Оводнение и развитие яиц всех серий опытов происходило в воде из р. Ляпин.

Первая оценка прочности оболочки производилась до активации яиц водой сразу после их отцеживания из самки. Периодичность проведения серий опытов в первый час развития яиц составляла десять минут, в последующем интервалы времени между сериями увеличивали с тридцати минут до двух часов. Опыты проводили последовательно до стабилизации значений. Температура воды в опытах составляла 0,5-1,0°C, что соответствует технологической норме при рыбоводных работах с яйцами сиговых рыб. Кроме того, в каждой из экспериментальных серий проводилась оценка продолжительности оводнения яиц по оригинальной методике. Всего было проведено с речной пелядью 17 серий, включающих 255 опытов; с чиром – 23 серии, включающих 345 опытов; с сигом-пыжьяном – 19 серий, включающих 285 опытов; с ряпушкой – 16 серий, включающих 240; с тугуном – 24 серии, включающих 360 опытов и с муксуном проведено 20 серий, включающих 300 опытов.

Анализ полученных результатов показал, что у каждого из исследованных видов кривая изменения прочности оболочек яиц имеет сложный характер. Однако периодичность направленности изменения прочности оболочек носит общий характер. Это позволило выделить четыре периода в изучаемом процессе: I – первичное увеличение прочности, II – снижение прочности, III – вторичное увеличение прочности и IV – стабилизация прочности оболочек яйца (рисунок 50). Существенные межвидовые различия проявляются в значениях показателя, отражающего прочность оболочек, и в продолжительности каждого из выделенных периодов динамики прочности оболочек. Вариабельность изучаемого признака (CV) в различных сериях не зависела от вида и была в пределах для речной пеляди от 14 до 30%, для чира – от 13 до 35%, для сига-пыжьяна – от 12 до 35%, для ряпушки – от 11 до 33%, для тугуна – от 16 до 38% и для муксуна – в диапазоне от 12 до 36%.

Прочность оболочек овулировавших неактивированных яиц сиговых рыб – не велика, значение нагрузки, вызывающее разрушение, составляло от 4 мг у

ряпушки до 10 мг у речной пеляди. Максимальная нагрузка на оболочки наблюдалась у яиц чира – 45 г.

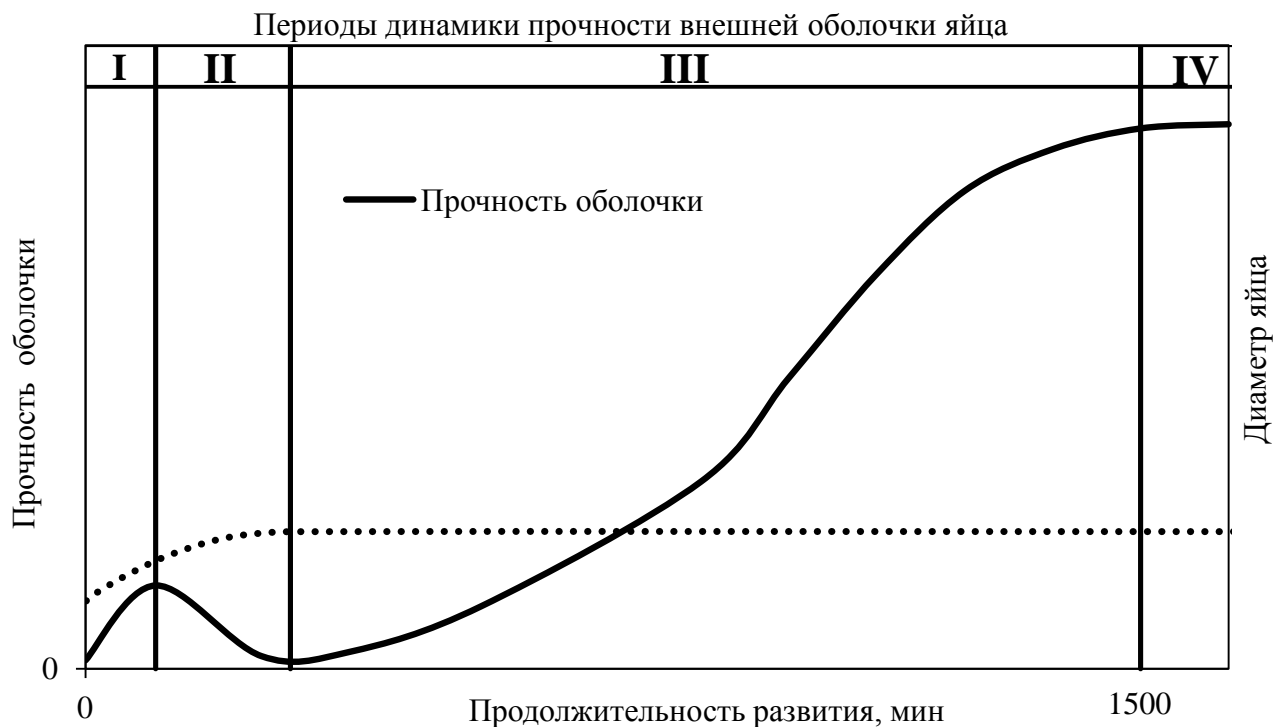


Рисунок 50 – Схема динамики прочности оболочек и диаметра яиц сиговых рыб после активации водой

Период первичного увеличения прочности оболочек яйца (I). После попадания неактивированного оводнённого яйца в воду у всех исследованных видов происходило небольшое, но достоверно регистрируемое, увеличение прочности оболочек за небольшой промежуток времени (рисунок 51). Яйца исследованных сиговых рыб по продолжительности первого периода можно условно разделить на две группы: к первой группе относятся яйца чира, сига-пыжьяна и ряпушки, ко второй – яйца речной пеляди, тугуна и муксуна. Продолжительность периода в первой группе составляла 10-20 мин, во второй – 30-40 мин (таблица 17). В течение этого периода величина нагрузки, разрушающей оболочки, по сравнению с первоначальным значением возросла от 1,1 у яиц чира до 3,7 раз у яиц ряпушки. По окончании I периода значение оцениваемой нагрузки находилось в интервале от 11 г для яиц тугуна до 51 г для яиц чира (таблица 18).

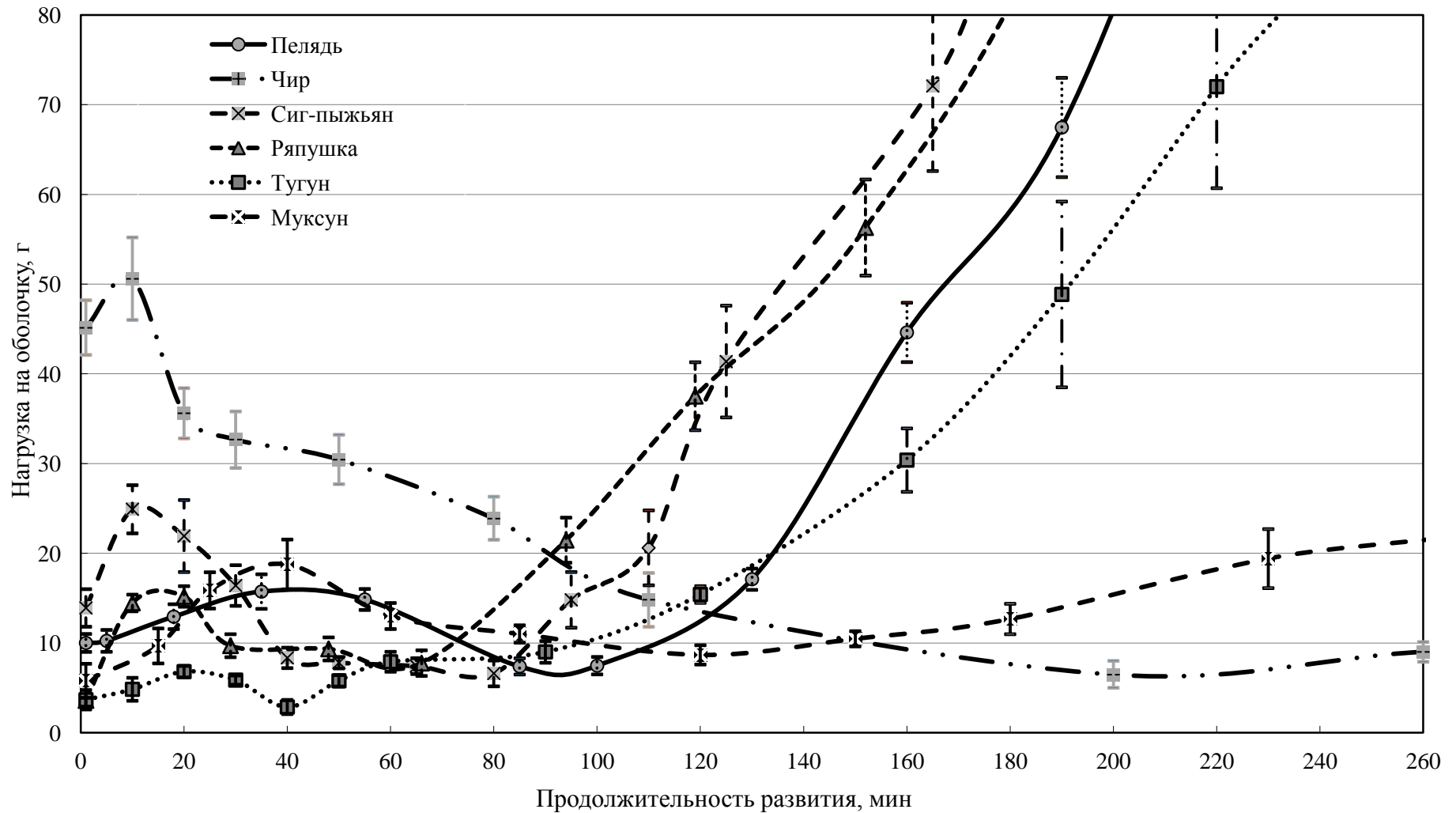


Рисунок 51 – Динамика прочности внешней оболочки яйца сиговых рыб в первые 160-260 мин развития. Для средних значений приведены доверительные интервалы при $P \geq 0,95$

Таблица 17 – Продолжительности процесса оводнения и периодов в динамике прочности оболочек яиц сиговых рыб

Вид	Продолжительность, мин			
	Оводнение	Периоды		
		I	II	III
Пелядь	105	35	85	1440
Чир	260	10	200	1605
Сиг-пыжьян	100	10	80	1440
Ряпушка	95	20	66	1680
Тугун	100	30	75	1440
Муксун	145	40	120	1380

Таблица 18 – Нагрузка, разрушающая оболочки яиц сиговых рыб, по окончанию выделенных периодов

Вид	Нагрузка на внешнюю оболочку, г			
	Неактивированное яйцо	Периоды		
		I	II	III
Пелядь	10,0±0,6	15,7±1,0	7,4±0,5	1282,0±70,0
Чир	45,1±1,7	50,6±2,4	6,5±0,8	503,7±30,4
Сиг-пыжьян	13,9±1,1	24,9±1,4	7,4±0,5	1089,2±36,2
Ряпушка	3,6±0,3	15,2±0,6	7,8±0,8	980,3±65,2
Тугун	3,7±0,6	6,8±0,3	2,9±0,4	1133,2±74,1
Муксун	5,8±1,0	18,8±1,5	8,7±0,6	1181,7±27,6

Период снижения прочности (II). Дальнейшее развитие яйца сопровождалось уменьшением прочности его оболочек. Во втором периоде уже выделяются три группы, причём временные отличия продолжительности данного периода у них более выражены. Так, к первой группе относятся яйца пеляди, ряпушки и тугуна с продолжительностью периода снижения прочности 45-50 мин. Ко второй группе можно отнести сига-пыжьяна и муксуна, прочность оболочек их яиц снижалась в течение 70 и 80 мин соответственно. К третьей группе относится только чир, у яиц этого вида отмечен самый продолжительный период снижения прочности – 190 мин. За II период у яиц всех исследованных видов, кроме чира, величина нагрузки, разрушающая оболочки, снизилась от 1,9 до 3,6 раз, в среднем – в 2,4 раза. У яиц чира эта нагрузка уменьшилась в 8,5 раз. По окончанию II периода оболочки яйца достигли минимума прочности и разрушались при нагрузке всего от 3 г у тугуна до 9 г у муксуна. Таким образом, при температуре 0,5-1,0°С после активации водой яйца речной пеляди, сига-пыжьяна, ряпушки и тугуна наиболее уязвимы к механическим воздействиям в

среднем через 75 мин, яйца муксуна – через 120 мин, яйца чира – через 200 мин.

После активации яйца водой начинается процесс его оводнения. По данным Ж.А. Черняева [25], оводнение яиц сиговых начинается через 4-5 мин после попадания в воду. Продолжительность процесса оводнения при температуре 0,5-1,0°С у исследованных сиговых различна и была в пределах от 95 у ряпушки до 260 мин у чира (таблица 17). Обращает на себя внимание сопряжённость процессов оводнения и снижения прочности оболочек яйца. Ранее аналогичный эффект был описан А.И. Зотиным [29] для свирского сига и форели. А.И. Зотин экспериментально доказал, что процесс затвердевания оболочек является фактором, регулирующим поступление воды в яйцо в процессе оводнения и определяющим его конечный размер.

В наших опытах к окончанию II периода диаметр яиц у всех исследованных сиговых достигал 93-95% от своих максимальных размеров. В среднем продолжительность оводнения яиц превышала суммарную продолжительность I и II периодов в 1,3 раза. Таким образом, у сиговых рыб момент достижения максимального (стабильного) размера оводняющегося яйца наступает с некоторым запаздыванием после прохождения минимума прочности оболочек яйца.

Период вторичного увеличения прочности (III). Чёткие видоспецифические отличия у исследованных сиговых рыб по продолжительности третьего периода отсутствовали. В частности, минимальная продолжительность данного периода наблюдалась у муксуна и составляла 1260 мин, максимальная – у ряпушки со значением 1600 мин. У яиц остальных видов третий период продолжался от 1355 мин у речной пеляди до 1405 мин у чира (рисунок 52, таблицы 17 и 18). Кривая процесса вторичного увеличения прочности у исследованных видов имеет s-образную форму. К концу III периода значение нагрузки на оболочки яиц у большинства исследованных видов находилось в пределах от 1011 г у ряпушки до 1282 г у речной пеляди. Исключением являются яйца чира, выдерживающие нагрузку только в 504 г.

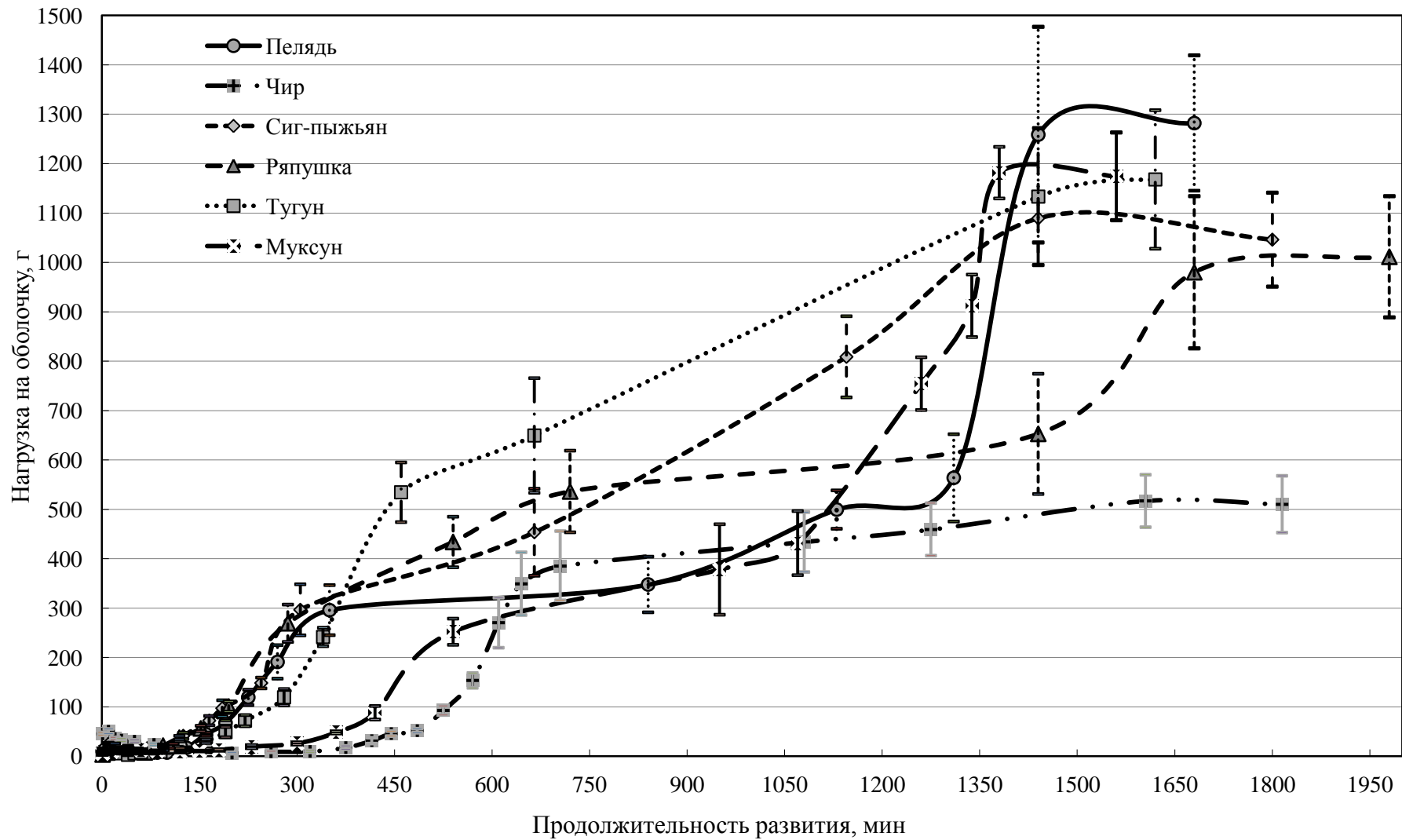


Рисунок 52 – Динамика прочности внешней оболочки яйца сиговых рыб в течении I этапа эмбрионального развития [25]. Для средних значений приведены доверительные интервалы при $P \geq 0,95$

Период стабилизации прочности оболочек (IV). Яйца речной пеляди, сига-пыжьяна, тугуна и муксуна достигают периода стабилизации прочности оболочек в среднем через 1440 мин, или через сутки, после активации, яйца ряпушки и чира – через 1640 мин. Таким образом, стабилизация прочности оболочек сиговых рыб происходит к концу I этапа эмбриогенеза [25] (оводнение и образование бластодиска).

Полученные данные необходимо учитывать при корректировке биотехники сбора икры сиговых рыб. В частности, яйца речной пеляди, сига-пыжьяна и тугуна наиболее уязвимы к механическим воздействиям через 80 мин после активации, муксуна – 120 мин, чира – 200 мин. Биотехнические мероприятия, связанные с риском механического повреждения икры (подсчёт, раскладка в транспортную тару, перевозка), целесообразно проводить не ранее, чем через сутки после её активации, а не через 6 – 8 часов, как это принято в соответствии с действующими технологическими нормами [9].

3.1.9 Динамика прочности внутренней оболочки яиц

Внутренняя, или первичная, оболочка выполняет не только транспортную функцию, но и защитную. Изучением прочности внутренней оболочки яиц рыб занимались Н.С. Строганов [119] и Р.И. Мухина [29]. Авторы проводили опыты на яйцах волжской сельди разных стадий развития. Данные о прочности внутренней оболочки сиговых рыб в литературе отсутствуют.

Цель – изучение динамики прочности внутренней оболочки яиц сиговых рыб после активации водой.

Материалом для исследования служили яйца следующих видов сиговых рыб: тугуна, речной пеляди, сига-пыжьяна, чира, ряпушки сибирской и муксуна. Исследования речных форм сиговых рыб проводили в октябре-ноябре 2011 гг. на рыбоводном пункте «Рахтынья». С яйцами муксуна работы проводили в лаборатории отдела Госрыбцентра. Яйца муксуна для опытов доставляли в лабораторию в изотермическом контейнере.

Для исключения индивидуального влияния различных самок на динамику показателя овулировавшие яйца брали от одной «текущей» самки с полноценными половыми продуктами. Оводнение и развитие яиц всех серий опытов происходило в воде из р. Ляпин. Первый опыт проводили через 30 мин после активации яиц. Температура воды в опытах составляла $1,0 \pm 0,2^\circ\text{C}$.

Динамика прочности внутренней оболочки яиц у исследованных видов после активации водой имеет сходный характер (рисунок 53). Прочность оболочки интенсивно увеличивалась в первые часы после активации водой и достигала своего максимума практически у всех видов за 2-4 ч. В частности, у яиц тугуна прочность внутренней оболочки достигла стабилизации через 2 часа после активации. Стабилизация прочности внутренней оболочки чира произошла через 4,2 часа развития.

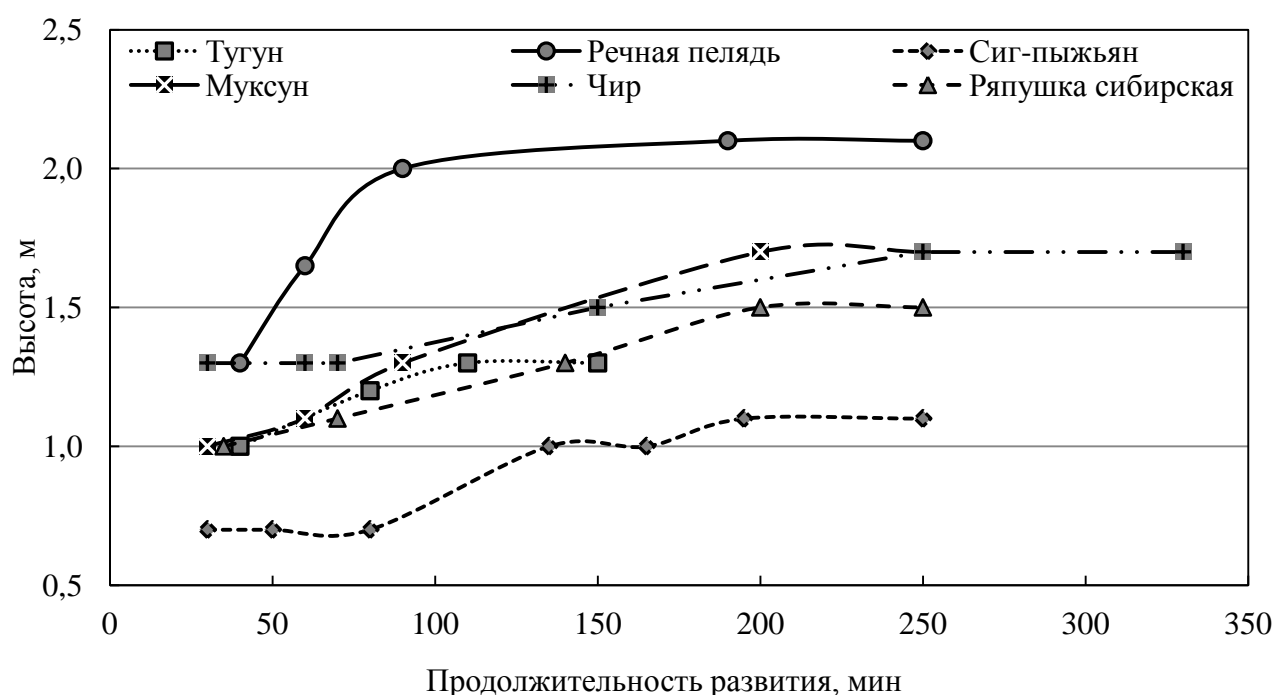


Рисунок 53 – Динамика прочности внутренней оболочки яиц сиговых рыб в первые часы развития

Масса яиц исследуемых видов различна, в связи с этим сравнение высоты при которой происходило разрушение внутренней оболочки не корректно.

Таким образом, прочность яйцевых оболочек сиговых рыб после оплодотворения и активации минимальная в течение первых 2-4 часов.

3.1.10 Влияние продолжительности контакта яиц с водой после активации на прочность внешней оболочки при последующем хранении

В промышленном сиговодстве хранение и транспортировка яиц сиговых осуществляется без воды – во влажной воздушной среде. Биотехника ручного, или традиционного, метода сбора яиц сиговых рыб на рыбоводных пунктах предусматривает проведение с ней основных манипуляций (оценку её количества, размещение в специальную тару для хранения и транспортировки) через 8 ч после момента оплодотворения [9]. Этот период яйца должны находиться в воде для нормального протекания процессов оводнения и упрочнения их внешних оболочек. Относительно продолжительное нахождение яиц в тазах, требующее периодической смены воды, существенно увеличивает общую длительность технологического цикла сбора икры и связано с большими затратами ручного труда при значительных масштабах работ. На практике периодически возникает потребность в ускорении процесса сбора яиц. В связи с этим возникает вопрос о допустимости сокращения сроков контакта яиц с водой после её оплодотворения перед последующими технологическими манипуляциями. Для ответа на него необходимо выяснить, как повлияет сокращение периода нахождения яиц в воде на прочность внешней оболочки яйца и продолжается ли нарастание прочности внешней оболочки яйца после прерывания его контакта с водой.

При технологических температурах 0,1-2,0°С диаметр яиц речной пеляди достигает своих максимальных размеров за 1,7 ч, а внутренняя оболочка наибольшей прочности – через 3 ч после активации. Наиболее продолжительным является процесс упрочнения внешней оболочки. По данным Л.В. Кугаевской [7], время приобретения относительно постоянной прочности внешней оболочки яиц пеляди составляет 7-8 ч. Этим мотивируется необходимость восьмичасового контакта яиц с водой после осеменения до проведения с ней последующих технологических манипуляций [9]. Однако, по результатам наших исследований, прочность внешней оболочки яиц речной пеляди, находящихся в воде,

увеличивается в течение первых 24 ч развития. Следовательно, представленные данные являются предпосылкой для обоснования существенного увеличения рекомендуемой продолжительности контакта яиц с водой. Однако такое изменение технологического режима при промышленных сборах мало приемлемо. Биологической предпосылкой для сокращения продолжительности технологического цикла сбора яиц сиговых рыб может являться установление факта увеличения прочности оболочки оводнённой яиц некоторое время и после прерывания её контакта с водой (в частности, при хранении).

Ранее работы по изменению прочности внешней оболочки вне водной среды были выполнены на активированной икре осетровых и лососевых рыб [29]. Подобные исследования на икре сиговых в литературе не представлены.

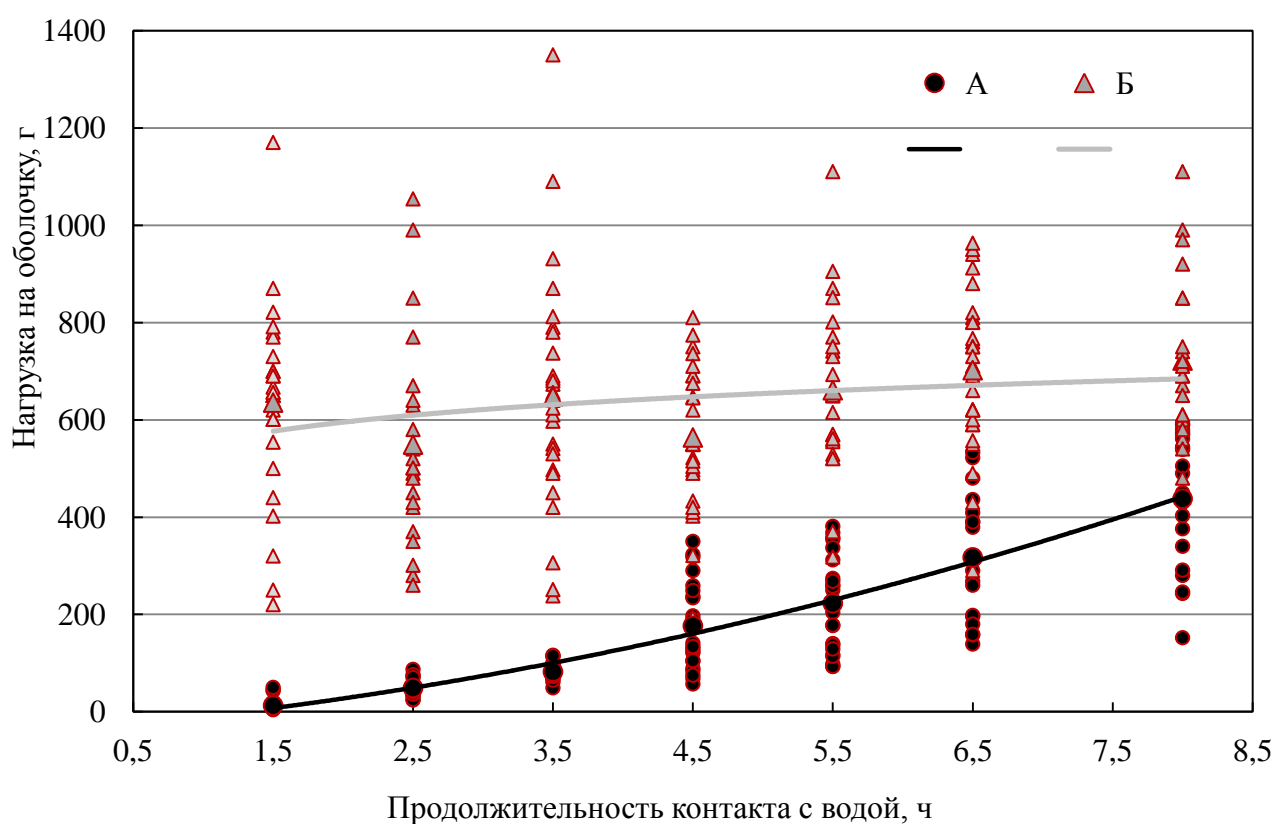
Цель – оценить влияние продолжительности первого контакта яиц с водой, начиная с момента активации, на прочность внешней оболочки при последующем их хранения во влажной воздушной среде.

Материалом для исследования служили яйца речной пеляди. Опыты проводили в октябре 2013 г. на рыбноводном пункте «Рахтынья». Проба яиц отбиралась при помощи пипетки из «производственной» партии, собранной ручным методом [9]. Прочность внешней оболочки яиц оценивали по величине нагрузки, вызывающей её разрыв при сдавливании. Каждая серия заключалась в последовательном раздавливании средней выборки из пробы, состоящей из 20 яиц. Продолжительность одной серии не превышала 2-3 минут. Для последующего анализа использовали среднюю величину.

Опыты проводились в семи последовательных сериях с интервалом 1 ч, последний временной интервал составил 1,5 ч. Проба первой серии была отобрана через 1,5 ч после активации икры, последняя – через 8 ч. Объём одной пробы в серии составлял около 100 яиц. Прочность внешней оболочки яиц из каждой пробы измеряли дважды: сразу после изъятия яиц из воды и после хранения. Прочность яиц после хранения определялась через сутки после сбора. Хранение яиц проходило в изотермическом ящике при температуре 0,5-1,0°C

во влажной воздушной среде на салфетках из синтетической сетки. Всего было проведено 16 серий, включающих 329 опытов.

По результатам исследований, через полтора часа после активации средняя величина нагрузки, разрушающей внешнюю оболочку яйца речной пеляди, составляла 13 г. В последующие 5 ч нагрузка постепенно возрастала со средней скоростью 5 г/мин и через 8 ч после активации увеличилась до 437 г (рисунок 54). Примерно при таком значении прочности оболочки происходит раскладка икры на рамки для хранения.



А – перед началом хранения во влажной воздушной среде; Б – после хранения в воздушной среде в возрасте одних суток.

Линии А и Б получены аппроксимированием средних значений логарифмической функцией

Рисунок 54 – Зависимость величины нагрузки на внешнюю оболочку яиц речной пеляди, вызывающей её разрыв, от продолжительности контакта с водой в первые часы развития

Таким образом, из результатов опытов следует, что после завершения процесса оводнения упрочнение внешней оболочки яиц продолжается во влажной

воздушной среде без контакта с водой. А.И. Зотин в своих работах [29] указывает на наличие в кортикальном слое яйца фермента затвердевания. Вода, в этом случае, является одним из активаторов процесса увеличения прочности оболочек. По данным, А.И. Зотина для яиц лососевых рыб достаточно 5-10 минутное пребывание в воде после оплодотворения для последующего увеличения прочности оболочек.

Результаты опытов позволяют обосновать сокращение продолжительности нахождения яиц пеляди в воде в период её сбора до 6-6,5 ч при температуре 0,1-2,0°С в случае технологической необходимости. Для окончательных выводов требуется апробация данной рекомендации при промышленном сборе.

3.1.11 Влияние значения рН воды на прочность внешней оболочки яиц

Практика рыбоводных работ показала, что существуют значительные различия в процессе затвердевания внешней оболочки яиц чира при сборе икры на рыбоводном пункте «Рахтынья» и на садковом хозяйстве «Волковское» [120]. Одна из возможных причин – разный химический состав воды, используемый в технологическом процессе. В частности, значение рН воды в двух источниках различается в среднем на 1 единицу. Ранее было показано влияние величины рН воды на диаметр яиц сиговых рыб (см. главу 2.1.3).

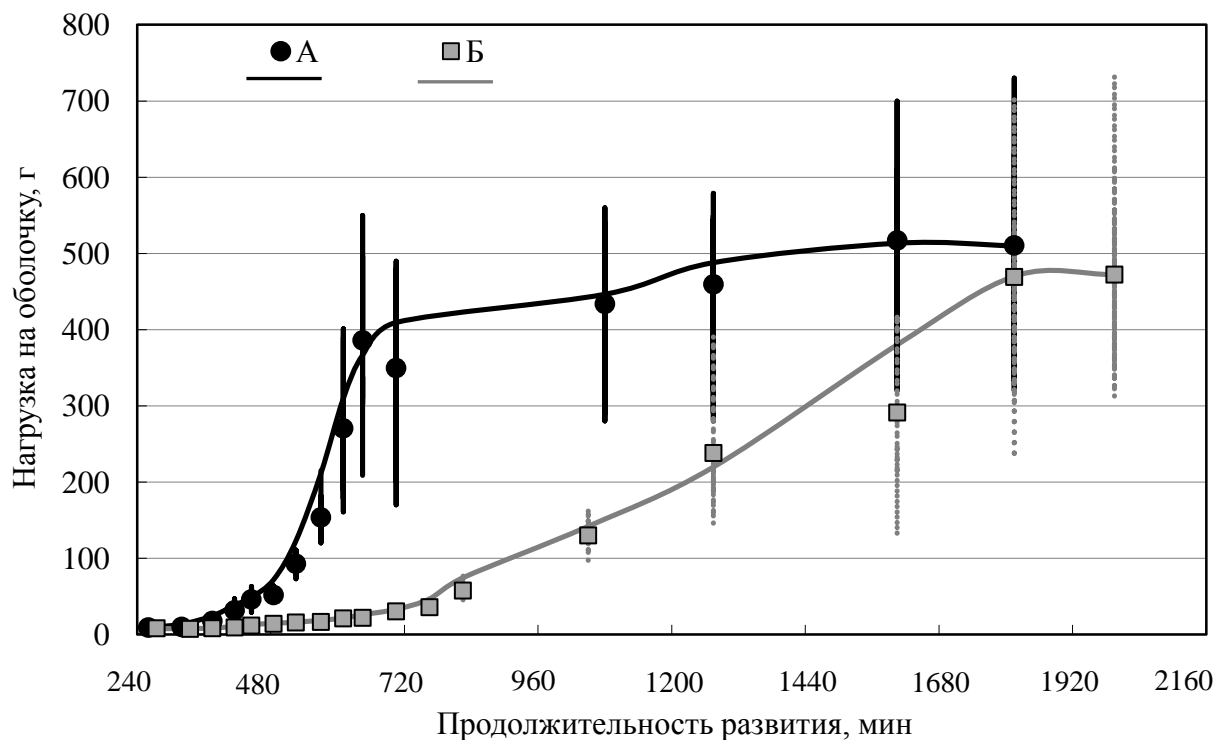
Для оценки влияния воды с различной с различным химическим составом на динамику прочности внешней оболочки яиц чира было проведено две параллельные серии опытов. Материалом служили зрелые половые продукты чира. Опыты в каждой из серий проводились поочерёдно. В первой серии опытная партия яиц развивалась в воде из р. Ляпин, во второй – в воде из оз. Волково. Для того чтобы исключить влияние индивидуальных особенностей самок на результаты опытов, яйца были получены одновременно от одной особи и разделены на две партии для каждой из экспериментальных серий. Температура воды в опытах составляла 0,5°С. Вода из оз. Волково была доставлена на базу авиатранспортом. Первая оценка прочности оболочки производилась до акти-

вазии яиц водой. Периодичность опытов в первый час развития яиц составляла десять минут, в последующем интервалы времени между опытами увеличивали с тридцати минут до часа. Опыты проводили до стабилизации значений. Всего было проведено 23 опыта в первой серии и 27 во второй. Кроме того, в каждой из экспериментальных серий проводилась оценка длительности оводнения яиц по оригинальной методике. Используемая в опытах вода из р. Ляпин отбиралась вблизи от естественных нерестилищ чира, поэтому динамику прочности внешней оболочки яиц в первой серии можно условно считать «физиологической нормой», что позволяет рассматривать её как контрольную. Вторую серию можно считать опытной, так как в ней использовалась вода из нехарактерного для размножения чира водоёма.

Результаты исследования показали, что в течение первых четырёх часов после активации, когда происходило оводнение яиц, существенных различий в процессе изменения прочности внешней оболочки в контроле и опытной серии не отмечалось. По окончании оводнения в первой серии начался период вторичного увеличения прочности внешней оболочки яиц. Кривая процесса вторичного увеличения прочности в контроле имела s-образную форму (рисунок 55). Во второй серии, несмотря на одинаковое время оводнения яиц, вторичное увеличение прочности внешней оболочки началось на три часа позже, чем в первой серии. Далее величина нагрузки возрастала менее интенсивно, чем в контроле. Резкого увеличения значения прочности внешней оболочки не наблюдалось. Кривая процесса вторичного увеличения прочности внешней оболочки в опытной серии имела более пологую выгнутую форму, чем в контроле.

В целом, для завершения упрочнения оболочки яиц чира в воде из р. Ляпин потребовалось 27 ч после активации водой, тогда как в воде из оз. Волково этот процесс занимал 30 ч. Максимальная нагрузка на оболочку в первой серии опытов составляла 510 г при коэффициенте вариации 20%, а во второй серии – 470 г и 30% соответственно. Таким образом, несмотря на различную интенсивность изучаемого процесса в контроле и опыте, кривые прочности оболочек

сблизились и вышли на плато при сходных итоговых значениях. Основные различия в динамике прочности оболочки между опытной серией и контролем наблюдалось в период вторичного увеличения прочности.



А – р. Ляпин; Б – оз. Волково

Рисунок 55 – Динамика прочности внешней оболочки яиц чира в первые 2040 мин развития в воде из разных водоёмов. Линии получены «сглаживанием» результатов опытов арифметической скользящей средней

Таким образом, в воде из р. Ляпин увеличение прочности внешней оболочки яиц чира происходит существенно быстрее, чем при использовании воды из оз. Волково. Следствием выявленных различий является зарегистрированная пониженная устойчивость яиц к механическим воздействиям при сборе икры на оз. Волково.

Как было показано выше, химический состав воды из двух источников различается по величине рН. Для оценки влияния рН воды, используемой в технологическом процессе, на прочность внешней оболочки яиц чира была проведена отдельная серия опытов в лаборатории Госрыбцентра в ноябре 2012 гг. Вторая экспериментальная работа Материалом для исследования служили половые продукты чира. Яйца были получены от трёх самок, содержащихся на

экспериментальном садковом хозяйстве «Волковское». Яйца доставляли в лабораторию в изотермическом контейнере. Опыты проводили на воде из оз. Волковское. Исходное значение рН в воде на момент проведения опытов – 8,0 единиц. Температура воды в опытах составляла 0,5-1,0°С. Для снижения значения рН воды использовали серную кислоту, для повышения – натрия гидроксид. Значение рН в опытах изменяли от 6,0 до 9,0 единиц с шагом в 0,5 единиц. Оводнение, развитие и также определение прочности оболочки яиц каждой самки проводили отдельно. Первое измерение прочности яиц проводили через 8 ч после их активации водой, последующие измерения – через 24, 48 и 72 ч после активации. У каждой самки определяли прочность 15-20 яиц через указанные временные интервалы. Для последующего анализа использовали среднюю величину нагрузки. Прочность оболочек была определена в 84 сериях, состоящих из 1428 опытов.

По нашим данным, через 8 ч после начала оводнения максимальная прочность внешней оболочки наблюдалась у яиц, развивавшихся в воде со значением рН 6,5 единиц. Величина нагрузки, разрушающая яйцо, составляла 370 г. Снижение или увеличение значения рН воды вызывало уменьшение величины нагрузки, разрушающей яйцо. Так, при величине рН 6,5 и 7,0 единиц яйца разрушались при нагрузке 210 и 190 г соответственно. В диапазоне рН 8,0-9,0 единиц прочность оболочки была минимальна. Величина нагрузки, разрушающей оболочку яйца, не превышала 7 г (рисунок 56).

Характер влияния величины рН на прочность внешней оболочки при дальнейшем развитии яйца не изменился. По окончании опытов через 72 ч развития максимальная прочность оболочек наблюдалась у яиц, развивавшихся при величине рН 6,5 единиц, со значением нагрузки – 930 г. Минимальная прочность оболочек яиц отмечалась при рН воды 8,5 и 9,0 единиц, величина нагрузки, разрушающей яйцо, составляла 210 и 190 г соответственно.

Кроме изменения прочности внешней оболочки яйца, изменялась также и динамика изучаемого показателя. Так, после 24 ч развития четвёртого периода,

стабилизации прочности внешней оболочки, достигли яйца, развивавшиеся в воде со значением рН 6,5 и 7,0 единиц. Прочность оболочек яиц, развивавшихся в воде при других значениях рН, незначительно продолжала возрастать в течение 72 ч.

Подобное влияние величины рН воды из естественных водоёмов на прочность оболочек яиц сиговых рыб отмечала Е.Л. Галактионова [42, 121]. По данным автора, максимальная прочность оболочек была у яиц, развивавшихся при величине рН воды от 6,5 до 7,7 единиц. Снижение рН воды до 5,6 единиц или увеличение до 8,0 единиц и выше вызывало снижение прочности оболочек в 4-11 раз.

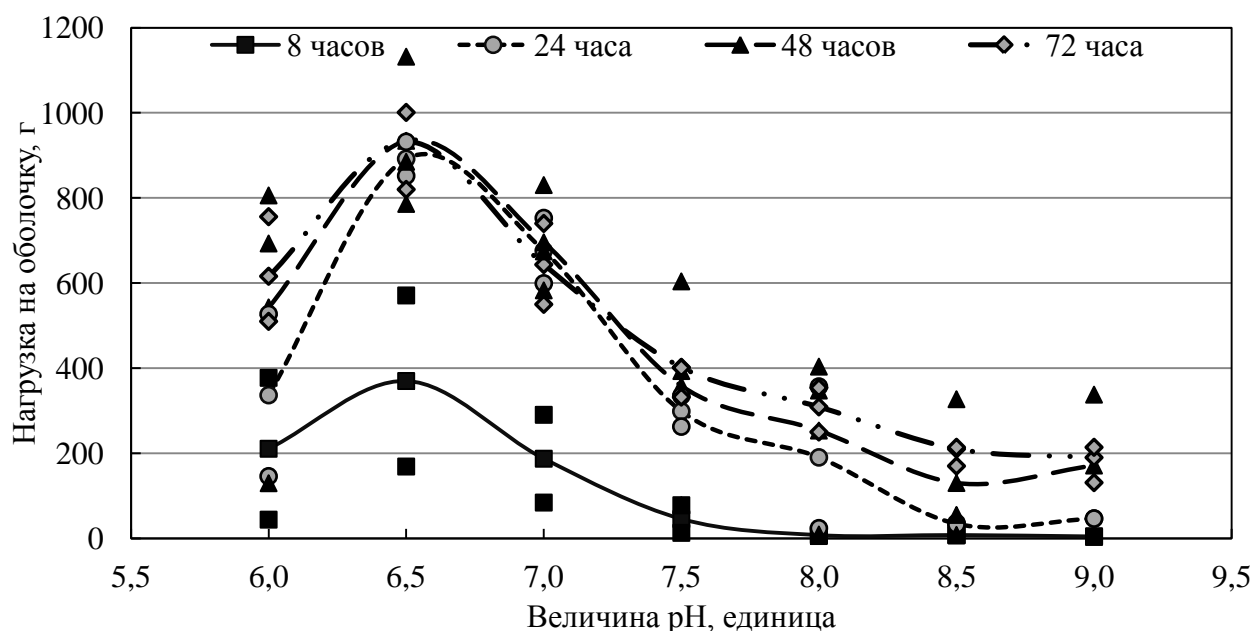


Рисунок 56 – Прочность внешней оболочки яиц чира при оводнении в воде с различными значениями рН в течение первых 72 часов развития. Линии проведены по средним значениям

На основании результатов опытов можно утверждать, что скорость и продолжительность увеличения прочности внешней оболочки яиц сиговых рыб существенно зависят от величины рН воды, в которой происходит их развитие. Очевидно, существует возможность активного управления процессом упрочнения оболочек яиц за счёт оптимизации химического состава воды, в частности рН, используемой в технологическом процессе.

3.2 Функциональные особенности спермиев

3.2.1 Влияние температуры на продолжительность движения спермиев

Температура один из наиболее существенных факторов среды, определяющий скорость биологических процессов [122], в том числе, и двигательную активность спермиев рыб [87, 123, 124]. Оплодотворяющая способность спермиев тесно связана с их подвижностью [77, 79, 87, 125, 126, 127]. Следовательно, продолжительность движения сперматозоидов является одним из важных биотехнических показателей качества половых продуктов самцов рыб. Ранее продолжительность движения спермиев сиговых рыб, как одного из показателей качества половых продуктов самцов, рассматривалась рядом авторов [7, 10, 12, 13, 14, 78, 128]. Однако, эти исследования выполнены на ограниченном количестве видов сиговых. Кроме того, данные об активности спермиев нередко приводятся без указания температуры опытов. Существующие литературные данные не позволяют оценить общие количественные закономерности влияния температуры на продолжительность движения спермиев сиговых рыб.

Цель – изучить зависимость продолжительности движения спермиев сиговых рыб Обь-Иртышского бассейна от температуры воды.

Материалом для исследования служила сперма следующих видов сиговых рыб: тугуна, речной и озёрной пеляди, сига-пыжьяна и чира. Исследования речных форм сиговых рыб проводились в октябре-ноябре 2008-2011 гг. на рыбобоводном пункте «Рахтынья». Материалы по озёрной пеляди собирались в ноябре-декабре 2008-2011 гг. на садковом хозяйстве «Волковское».

Для большинства исследованных видов диапазон температур опытов находился в пределах 0,5-13,4°C; для сига-пыжьяна – 0,5-10,1°C. Выбранный диапазон соответствует зоне температур, при которых возможно дробление бластодиска [35, 129].

Сперму получали методом прижизненного отцеживания. Самцы перед отцеживанием подвергались анестезии. В каждой серии опытов использовали

сперму от одного самца. С сигом-пыжьяном было выполнено две серии опытов, с речной и озёрной формами пеляди, чиром и тугуном по три серии. Всего проведено 14 серий, включающих 98 опытов.

По результатам исследования, в каждой серии с повышением температуры в опытах продолжительность двигательной активности спермиев статистически достоверно сокращалась (рисунок 57 и 58, таблица 19). В частности, среднее значение общей продолжительности движения спермиев у речной пеляди в исследуемом интервале температур 0,5-13,4°C сокращалось с 451 до 131 с, у чира – с 345 до 161 с, у озёрной пеляди – с 341 до 229 с, у тугуна – с 201 до 172 с. У сига-пыжьяна в диапазоне температур 0,5-10,1°C данный показатель изменялся с 555 до 123 с (рисунок 57). Параллельно сокращалась и продолжительность поступательного движения спермиев (рисунок 58). Так, среднее значение продолжительности поступательного движения спермиев сига-пыжьяна уменьшалась с 243 до 66 с. У речной пеляди изучаемый показатель уменьшался с 199 до 67 с, у чира – с 135 до 71 с, у озёрной пеляди – с 141 до 91 с, у тугуна – с 108 до 100 с.

Кратность уменьшения продолжительности общего движения спермиев речной пеляди, чира, озёрной пеляди и тугуна в интервале температур 0,5-13,4°C составляла 3,6; 2,1; 1,5 и 1,2 раза соответственно. У сига-пыжьяна в исследуемом диапазоне температур 0,5-10,1°C общая продолжительность движения спермиев изменялась в 4,5 раза. Продолжительность поступательного движения спермиев сокращалась у сига-пыжьяна в 3,7 раза. У спермиев речной пеляди данный показатель уменьшался в 2,9 раза, у чира – в 1,9 раза, у озёрной пеляди – в 1,5 раза. У тугуна продолжительность поступательного движения спермиев, как и общая продолжительность движения, уменьшалась при повышении температуры незначительно по сравнению с остальными видами в 1,1 раза.

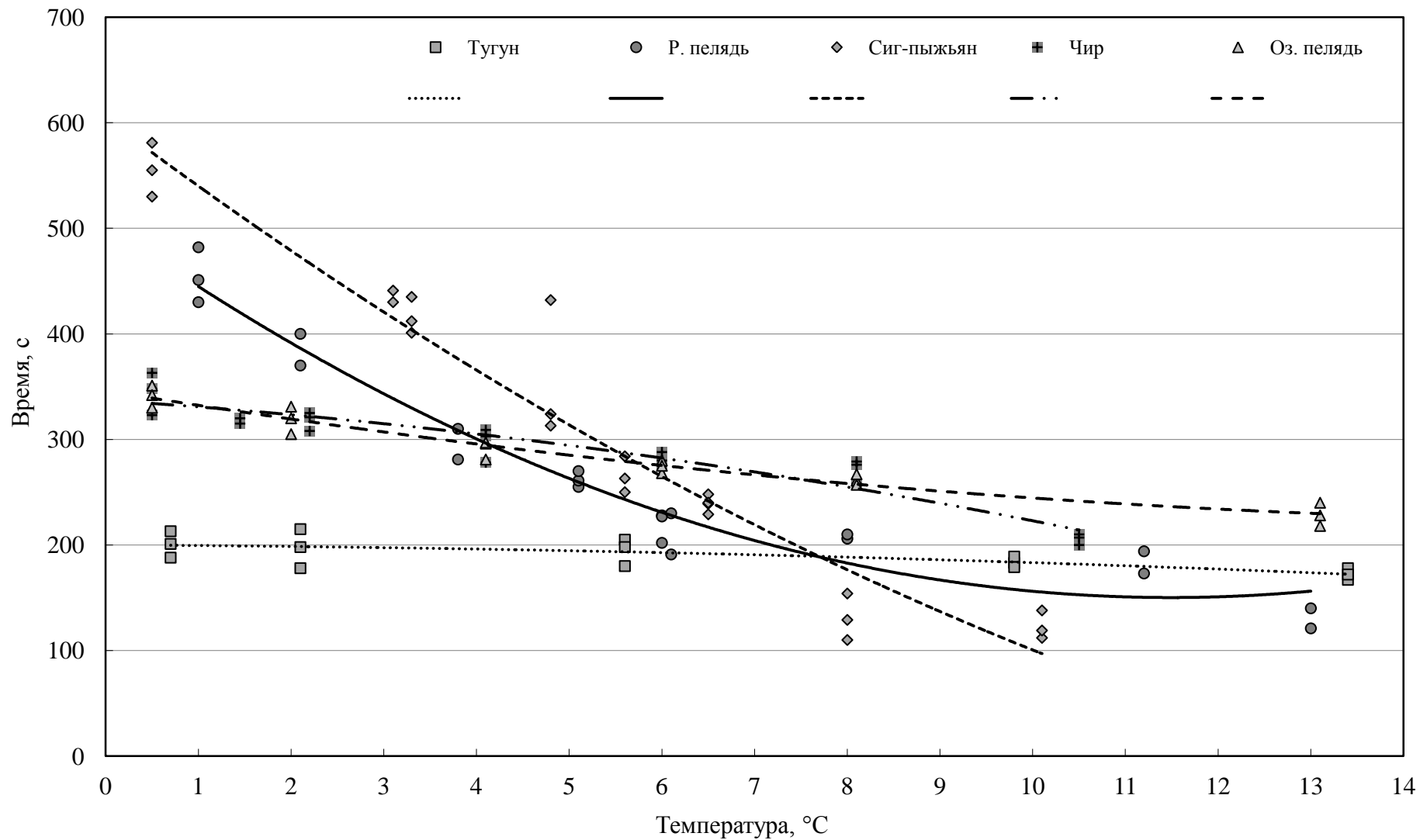


Рисунок 57 – Зависимость продолжительность общего движения спермиев сиговых рыб от температуры

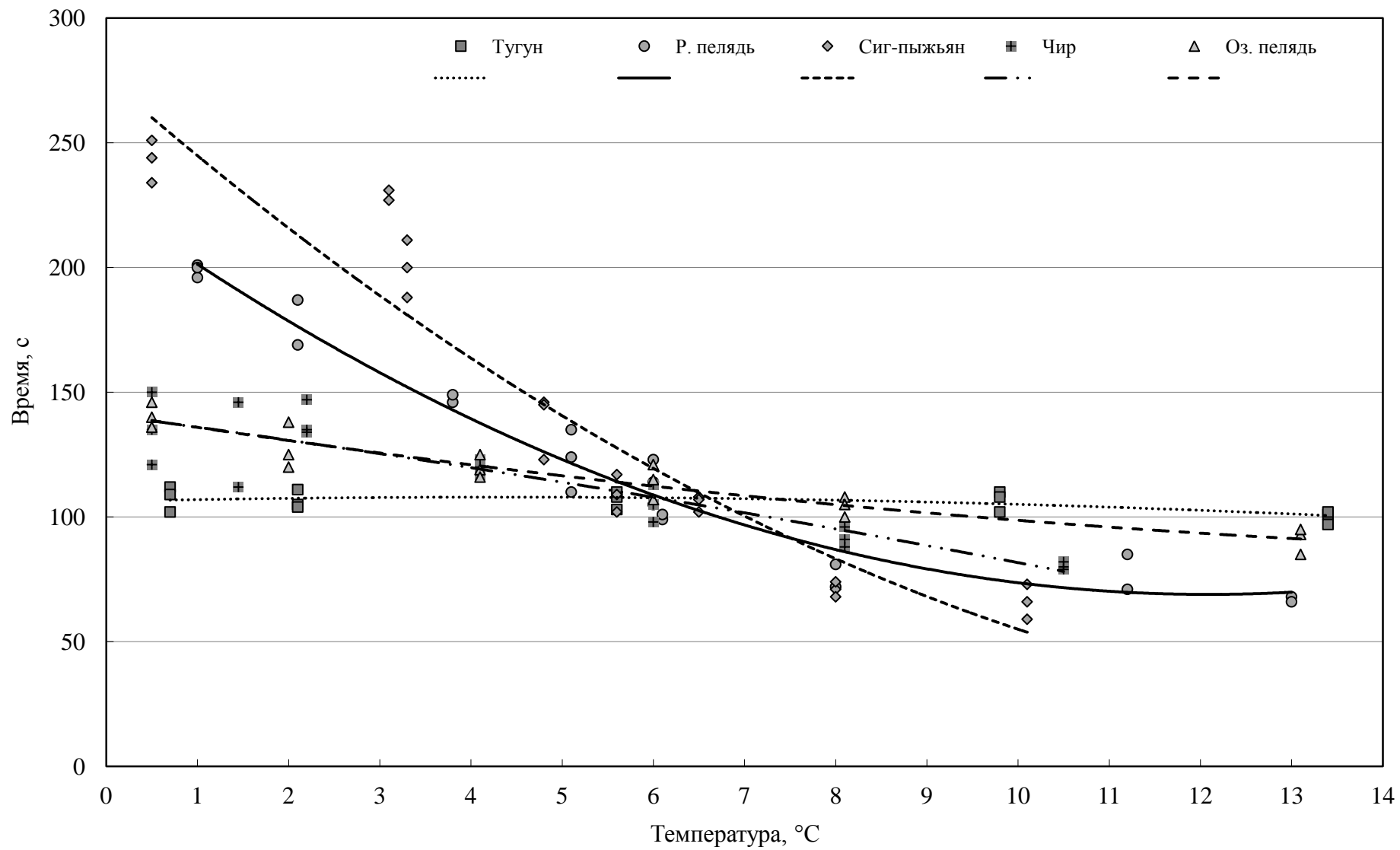


Рисунок 58 – Зависимость продолжительности поступательного движения спермиев сиговых рыб от температуры

Таблица 19 – Результаты корреляционного анализа продолжительности движения спермиев сиговых рыб от температуры

Вид	Общая продолжительность движения			Продолжительность поступательного движения		
	n	r	P	n	r	P
Тугун	15	-0,98	0,99	15	-0,79	0,98
Речная пелядь	21	-0,88	0,99	21	-0,93	0,99
Сиг-пыжьян	24	-0,99	0,99	24	-0,95	0,99
Чир	20	-0,96	0,99	20	-0,98	0,99
Озёрная пелядь	18	-0,98	0,99	18	-0,98	0,99

Результаты опытов, отражающие зависимость продолжительности движения спермиев от температуры в диапазоне 0,5-13,4°C аппроксимированы левой ветвью параболы (2):

$$y = a * t^2 - b * t + c, \quad (2)$$

где y – продолжительность движения спермиев (с); t – температура воды (°C); a, b, c – коэффициенты (таблица 20).

Таблица 20 – Коэффициенты уравнения, описывающего продолжительность движения спермиев сиговых от температуры

Вид	Общая продолжительность движения				Продолжительность поступательного движения			
	коэффициенты			R ²	коэффициенты			R ²
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>		<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	
Тугун	-0,11	0,54	200,18	0,52	-0,09	0,78	106,28	0,39
Речная пелядь	2,68	61,53	503,77	0,95	1,08	26,04	226,31	0,97
Сиг-пыжьян	1,55	65,86	604,36	0,95	0,99	32,03	275,89	0,91
Чир	-0,57	5,68	337,11	0,90	-0,11	4,89	141,02	0,84
Озёрная пелядь	0,41	14,27	346,19	0,95	0,14	5,71	141,50	0,90

По нашим данным, соотношение продолжительности поступательного движения и общей продолжительности движения спермиев у большинства исследованных сиговых рыб не зависит от температуры. Положительная достоверная зависимость ($r = 0,96$; $P \geq 0,95$; $n = 15$) между изучаемыми показателями и температурой была обнаружена только у тугуна (таблица 21).

Продолжительность поступательного движения спермиев у речной и озёрной пеляди, сига-пыжьяна и чира составляет 39-50% от общего времени их двигательной активности. Продолжительность периода от момента активации

до перехода 50% спермиев из поступательного в колебательное движение у данных видов составляет 25-31% от общего времени движения. У тугуна доля поступательного движения спермиев от общей продолжительности несколько выше и составляет 54-58%, продолжительность периода от активации до перехода 50% спермиев из поступательного движения в колебательное от общего времени движения – 39-41%.

Таблица 21 – Доля (%) продолжительности поступательного движения спермиев (А) и доля продолжительности периода от активации до перехода 50% спермиев из поступательного в колебательное (Б) от общей продолжительности движения и степень зависимости этих показателей от температуры

Виды	Температура, °С								Средние значения		n	r		P	
	0,1-2,5		2,6-5,0		5,1-7,0		Свыше 7,1								
	А	Б	А	Б	А	Б	А	Б	А	Б		А	Б		
Тугун	54	41	54	41	55	39	58	40	55	40	15	0,962	-0,398	0,999	0,547
Речная пелядь	43	26	48	25	49	29	47	30	47	28	21	0,005	0,383	0,080	0,648
Сиг-пыжьян	44	27	50	31	40	27	54	26	47	28	24	0,413	-0,387	0,733	0,697
Чир	40	29	42	27	39	27	43	25	41	27	20	-0,455	-0,452	0,789	0,785
Озёрная пелядь	41	26	41	27	42	29	40	31	41	28	18	-0,555	-0,255	0,864	0,444
Сиговые	44	30	47	30	45	30	48	30	46	30	98	0,661	0,634	0,789	0,844

По результатам исследований, можно условно выделить три температурных зоны продолжительности двигательной активности спермиев сиговых рыб: зона температур массового нереста (до 5,0°C), зона верхнего предела нерестовых температур (5,1-7,0°C) и зона температур, превышающих нерестовые значения (свыше 7,1°C). Видоспецифические отличия продолжительности движения спермиев максимальны в первой зоне при температурах 0,1-2,5°C. В частности, коэффициенты вариации продолжительности общего и поступательного движения спермиев исследованных видов в первой зоне составляют 27 и 28% соответственно. Наибольшая продолжительность общего и поступательного движения спермиев в этой зоне была отмечена у сига-пыжьяна и составила 555-416 с и 243-200 с соответственно. Наименьшая продолжительность общего и

поступательного движения спермиев наблюдалась у тугуна – 201-194 с и 108-107 с соответственно.

Во второй температурной зоне (5,1-7,0°C) наблюдались минимальные межвидовые различия продолжительности общего и поступательного движения спермиев при коэффициентах вариации 13 и 8% соответственно. При этом, среднее значение общей продолжительности движения спермиев всех исследованных видов рыб находилась в интервале 194-281 с, длительности поступательного движения – 105-114 с.

В зоне температур, превышающих нерестовые значения (выше 7,1°C), видоспецифические отличия в изучаемых характеристиках двигательной активности спермиев вновь отчётливо проявляются, но в обратном порядке и с меньшим разбросом по сравнению с первой зоной. В частности, коэффициенты вариации продолжительности общего и поступательного движения спермиев исследованных видов составляют 27 и 17% соответственно. Средние значения продолжительности общего и поступательного движения спермиев при 10°C у тугуна составляют 184 и 107 с, у сига-пыжьяна – 131 и 66 с соответственно.

Необходимо отметить, что зависимость продолжительности двигательной активности спермиев тугуна на всем интервале исследуемых температур выражена в меньшей степени, чем у других видов.

Ранее в работах авторы [7, 10, 12, 13, 14, 78, 130] указывали, преимущественно, значение активности сперматозоидов. Под этим термином понимается период времени от активации водой до перехода 50% спермиев от поступательного движения в колебательное в поле зрения микроскопа. В частности, по данным Р.В. Казакова и Б.Б. Волошенко [80], при температуре 2,4-4,0°C активность спермиев речной пеляди и чира составляла 43,98 и 46,50 с соответственно. По данным Г.В. Ефанова [14], активность спермиев у самцов ендырьской озёрной пеляди при температуре от 2 до 5°C составляла 37,7-39,5 с. А.Н. Кузьмина и А.М. Чуватова [12] регистрировали не только продолжительность поступательного движения спермиев сиговых рыб, но и общую длительность

движения. Так, при температуре 2,5-3,5°C продолжительность поступательного движения спермиев чира и пеляди составляла 40 и 30 с соответственно, общая продолжительность – 4-5 мин у чира и 6 мин у пеляди. Необходимо отметить, что перечисленные работы были проведены с сиговыми рыбами, интродуцированными на Северо-Западе России из Обь-Иртышского бассейна. В наших исследованиях у пеляди и чира продолжительность периода от активации до перехода 50% спермиев из поступательного движения в колебательное была в полтора-два раза больше, а общая продолжительность движения спермиев, в целом, совпала с приведёнными выше данными в тех же температурных границах. Вероятно, такие различия по первому показателю связаны с субъективностью определения момента перехода 50% спермиев от поступательного движения к колебательному.

3.2.2 Динамика оплодотворяющей способности спермиев после активации водой

Продолжительность движения спермиев сиговых рыб в диапазоне биотехнологических температур 0,5-2,0°C не превышает 6 минут, а продолжительность поступательного движения ещё короче – не более 3 минут (см. главу 3.2.1) [131]. В связи с этим, при искусственном осеменении яиц актуально определить, насколько тесно связана оплодотворяющая способность спермиев с их двигательной активностью и как изменяется оплодотворяющая способность спермиев с момента активации водой.

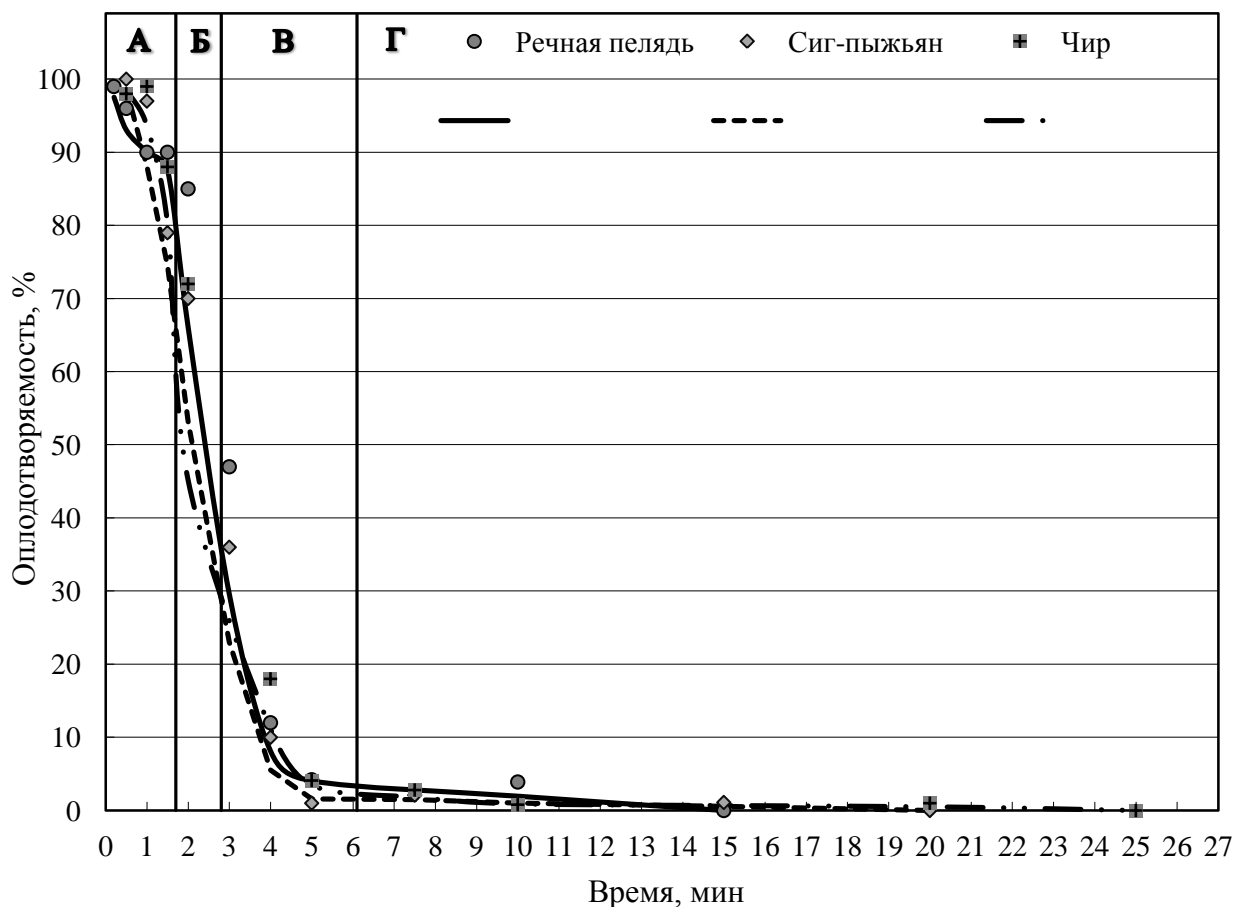
Цель – изучение динамики оплодотворяющей способности спермиев сиговых рыб после их активации водой.

Эксперименты проводились на базе сбора икры «Рахтынья» в октябре 2010 г. Материалом для исследования служила сперма речной пеляди, сига-пыжьяна и чира. Сперму получали методом отцеживания «текучих» производителей после выдерживания в садках. Сперму от одного полноценного самца, насухо отцеживали в ёмкость. Объём отцеженного эякулята у речной пеляди составлял

0,5 мл, у сига-пыжьяна и чира – 0,9 и 1,2 мл соответственно. К эякуляту каждого самца добавляли по 50 мл воды и регистрировали время активации. Концентрация спермиев речной пеляди в опытном растворе составляла 74 млн шт./мл, сига-пыжьяна и чира – 94 и 135 млн шт./мл соответственно. Данные значения концентрации спермиев превышали уровень, необходимый для максимального оплодотворения яиц (см. главу 3.2.3). Через определённые промежутки времени после активации раствором воды и спермы в объёме 5 мл осеменяли равные порции яиц. Яйца для опыта были взяты от трёх полноценных самок и усреднены перемешиванием. Количество яиц в одной порции составляло 100-150 шт. Каждая порция яиц была разложена в отдельные чашки Петри без добавления воды. В течение опыта параллельно регистрировали момент перехода 50% спермиев из поступательного движения в колебательное, продолжительность поступательного движения и общую продолжительность движения. Интервал между активацией спермы и осеменением яиц увеличивался от 30 с в начале опыта до 5 мин в конце опыта. С каждым видом было проведено по одной серии, каждая серия состояла из 10 опытов. В качестве контроля служили яйца, осеменённые неактивированной спермой с последующим добавлением воды (нулевая экспозиция). Оплодотворяемость яиц в контроле составила 99%. Температура воды в опытах с речной пелядью и сигом-пыжьяном составляла 3,3°C, с чиром – 1,5°C.

По результатам исследований, максимальная доля оплодотворённых яиц наблюдалась в течение первых полутора минут после активации спермы и составила в среднем 94%. Через 2 мин после активации спермиев оплодотворяемость снизилась до 75%. В данный период времени наблюдался переход 50% спермиев из поступательного в колебательное движение. Через 3 мин после активации спермиев оплодотворяемость снизилась до 41%. Причём, движение спермиев при данной экспозиции опыта было преимущественно колебательным. Через 5 мин после активации доля оплодотворённых яиц составляла толь-

ко 1-4%. В этот момент наблюдалось колебательное движение у единичных спермиев (рисунок 59).



А – все спермии движутся поступательно; Б – переход 50% спермиев от поступательного движения в колебательное; В – все спермии движутся колебательно; Г – активное движение спермиев отсутствует

Рисунок 59 – Динамика оплодотворяющей способности спермиев после активации водой. Температура воды в опытах с речной пелядью и сигом-пыжьяном – 3,3°C; с чиром – 1,5°C. Линии получены «сглаживанием» результатов опытов арифметической скользящей средней

В опытах регистрировалось единичное оплодотворение яиц уже после прекращения движения спермиев, которое в среднем наступает через 6,2 мин после активации (рисунок 60). Так, у речной пеляди оплодотворение яиц на уровне 4% зарегистрировано после 10-ти минутного нахождения спермиев в воде до контакта с яйцами, или через 3,8 мин после прекращения движения в пробе. В опытах с сигом-пыжьяном оплодотворяемость яиц через 7,5 мин после активации спермиев, или через 1 мин после их обездвиживания, составляла 2%, через

15 мин (8,5 мин после прекращения движения) – 1%. Спермии чира способны оплодотворять яйца на уровне 3% через 7,5 мин после активации, или через 2 мин после прекращения движения, и на уровне 1% – через 20 мин (14,5 мин после прекращения движения). При дальнейшем увеличении экспозиции оплодотворённые яйца в опытах не отмечались.

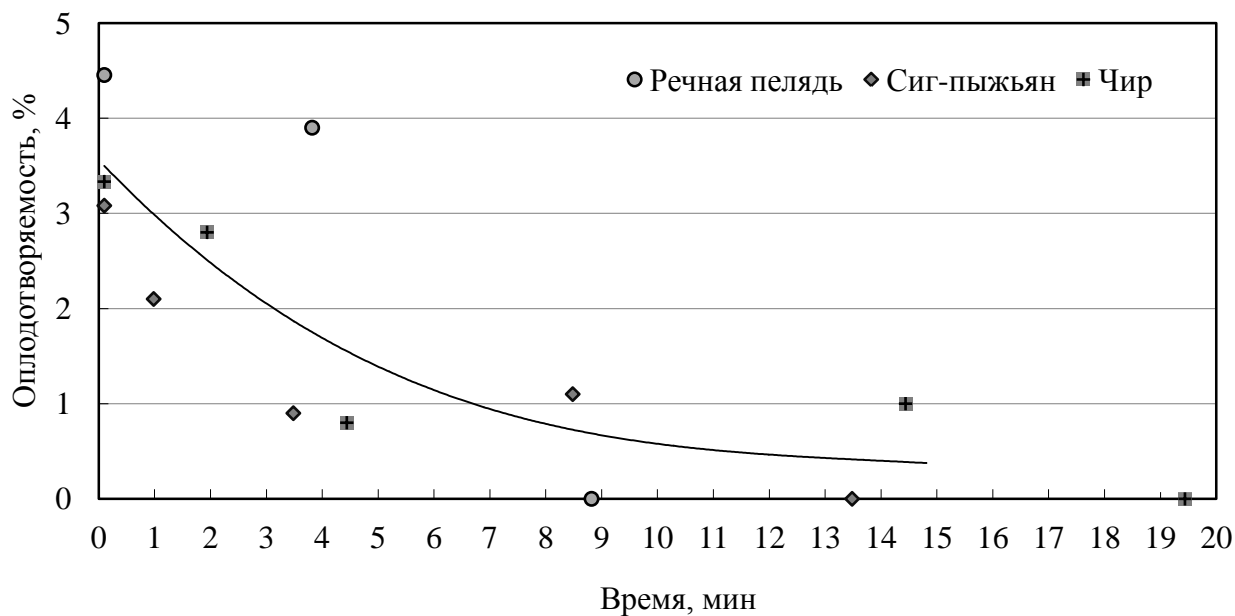


Рисунок 60 – Динамика оплодотворяющей способности спермиев сиговых рыб после прекращения их двигательной активности

На оплодотворяющую способность спермиев температура влияет опосредованно через продолжительность их двигательной активности. В связи с тем, что продолжительность движения спермиев у исследованных видов была аналогичной, существенных отличий в динамике оплодотворяющей способности спермиев разных видов не наблюдалось, не смотря на различные температуры в сериях опытов.

Обращает на себя внимание, что процессы снижения оплодотворяемости яиц (см. главу 3.1.4) [132] и оплодотворяющей способности спермы у одного и того же вида при одинаковой температуре протекают не синхронно. В частности, яйца чира способны оплодотворяться на уровне контроля даже через 4 мин после активации. Тогда как спермии чира способны к оплодотворению на уровне контроля только в течение 1,5 мин после контакта с водой. Уменьшение до-

ли оплодотворённых яиц до 18% после происходит через 4 мин после активации спермы. Для яиц такой показатель достигается только через 7,5 мин после активации. Таким образом, спермии теряют способность к оплодотворению после активации в два раза быстрее, чем яйца. Подобная зависимость обнаружена у многих других рыб с наружным оплодотворением [79, 105]. При этом временной интервал нахождения в воде, обеспечивающий единичное оплодотворение, у каждого из видов в наших опытах приблизительно равен как для яиц, так и для спермиев – 10-15 мин.

Многие авторы указывают, что спермии способны оплодотворять яйцеклетку только во время поступательного движения [77, 79, 87]. Результаты данного исследования показывают, что способность спермиев к оплодотворению сохраняется и в период колебательного движения. В опытах сразу после перехода всех спермиев из поступательного движения в колебательное оплодотворялось более 50% яиц. Даже после полного прекращения двигательной активности спермии сиговых способны оплодотворять яйца в течение 9-14 минут. Оплодотворяемость икры при этом находилась в пределах 1,0-4,5%. Этот эффект, вероятно, связан со случайным их проникновением в икринку через микрополе при высокой концентрации спермы в эксперименте.

Таким образом, спермии потенциально способны к максимально эффективному оплодотворению яиц в течение 1,5 мин после активации. Спермии сохраняют способность к оплодотворению после перехода в фазу колебательного движения, но эффективность оплодотворения при этом снижается в 2-20 раз. Единичное оплодотворение яиц сиговых рыб возможно в течение первых 4-14,5 мин после прекращения двигательной активности спермиев.

3.2.3 Влияние концентрации спермиев на оплодотворяемость яиц

При искусственном осеменении яиц необходимо знать концентрацию спермиев в воде, обеспечивающую эффективное оплодотворение. Ранее работы по определению минимальной концентрации спермиев, необходимой для опло-

дотворения яиц, были проведены И. В. Киселёвым [46] для карпа и А.С. Гинзбург [79, 102] для озёрной форели, осетра, белуги и севрюги. Для сиговых рыб подобные данные в литературе не представлены.

Цель – определить минимальную концентрацию спермиев в воде, обеспечивающую максимальную долю оплодотворения яиц.

Работы проводили в октябре-ноябре 2013 г. на рыбоводном пункте «Рахтынья». Материалом для исследования служили полноценные половые продукты речной пеляди, сига-пыжьяна и чира. В опытах использовали смесь спермы, полученную от 10-15 самцов. Сперму каждого вида без примеси воды, фекалий и крови сцеживали в сухую чашку Петри и перемешивали. Яйца отбирали от одной полноценной самки каждого вида. Затем последовательно отмеренное количество спермы объёмом от 0,01 до 5 мл разбавляли в определённом объёме воды. Учитывая соотношение объёма воды и добавленного в неё эякулята, добывались разной концентрации спермиев в воде. При помощи ФЭК определяли концентрацию спермы в эякуляте каждого вида. В течение 10 с выравнивали концентрацию спермиев в опытном объёме воды за счёт интенсивного перемешивания. Далее добавляли порцию неактивированных яиц в количестве 150-200 шт. Яйца в растворе спермы и воды находилась 2 мин. В течение этого времени раствор медленно перемешивали. После яйца перенесли в чашки Петри с водой для дальнейшего развития. В качестве контроля служили яйца, осеменённые неактивированной спермой «сухим» способом. Температура воды в опыте составляла 0,5°C. С каждым видом проведено по одной серии, состоящей из 10 опытов. Оплодотворяемость яиц в контроле составляла от 91 у сига-пыжьяна до 99% у чира. Оплодотворяемость для каждого опыта определялась с учётом контрольного значения.

Концентрация спермиев в эякуляте речной пеляди составляла 3,35 млрд шт./мл, сига-пыжьяна и чира – 4,31 и 4,47 млрд шт./мл соответственно. Концентрация спермиев в опытных растворах была в интервале от 1 до 1005 млн шт./л у речной пеляди; у сига-пыжьяна – 1-1293 млн шт./л; у чира – 1-1341 млн шт./л.

По результатам опытов, оплодотворяемость яиц свыше 10% у *речной пеляди* наблюдалась при концентрации спермиев в воде 34 млн шт./л; около 50% – при концентрации 335 млн шт./л.; свыше 90% – при концентрации 1005 млн шт./л (рисунок 61). У *сига-пыжьяна* при концентрации спермиев 4 млн шт./л удалось зафиксировать единичное оплодотворение яиц (2,4%). У других видов при подобном разбавлении спермы водой оплодотворённые яйца не обнаружены. При концентрации спермиев в 43 млн шт./л оплодотворился 41% яиц. Однако, при концентрации спермиев в два раза выше (86 млн шт./л) оплодотворяемость составила только 30%. Оплодотворяемость яиц свыше 90% наблюдалась при концентрации 862 млн шт./л. Оплодотворённые яйца *чира* (13%) отмечались в опыте с концентрацией спермы в воде 89 млн шт./мл. Около 50% яиц оплодотворилось при концентрации 268 млн шт./л. Концентрация спермиев 894 млн шт./л обеспечивала оплодотворяемость свыше 90% яиц.

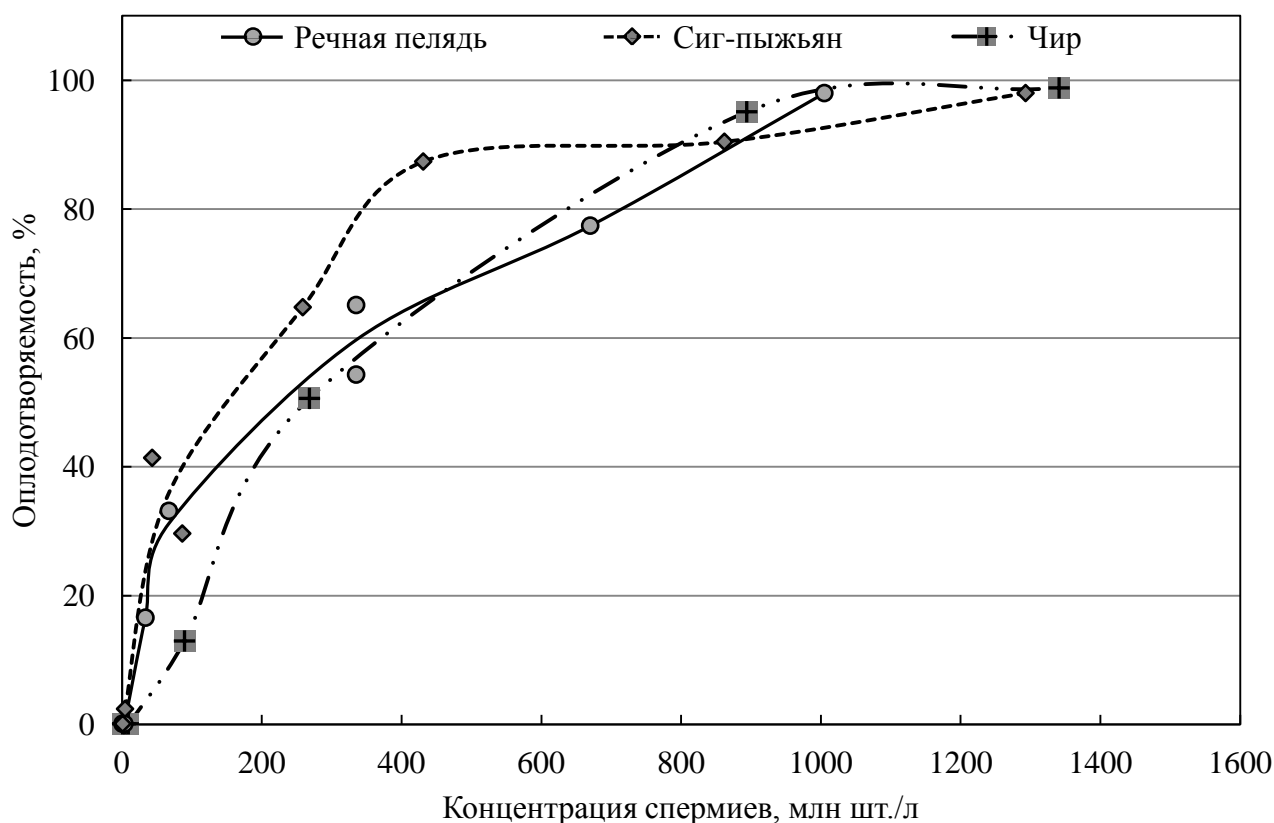


Рисунок 61 – Влияние концентрации спермиев в воде на оплодотворяемость яиц речной пеляди, сига-пыжьяна, чира. Линии проведены по средним значениям

Таким образом, яйца сига-пыжьяна оплодотворяются при незначительно меньшей концентрации спермиев в воде, в отличие от речной пеляди и чира. У двух последних видов кривые, проведённые по средним значениям, практически совпадают. Можно предположить, что видовая специфика зависимости оплодотворяемости яиц от концентрации спермиев в воде практически отсутствует. В случае проведения более одной серии, наблюдаемый разброс значений можно было бы получить для каждого отдельного вида. Следовательно, полученные данные по трём видам можно осреднить. Тогда, 10%-ная оплодотворяемость яиц будет обеспечена при концентрации спермиев в воде 62 млн шт./л; концентрация спермиев в воде 290 млн шт./л способна оплодотворить около 50% яиц; оплодотворение свыше 90% яиц возможно при концентрации 920 млн шт./л.

Биотехника сбора икры сиговых рыб ручным способом предусматривает добавление в таз с икрой спермы от самцов, количество которых равно количеству самок, и 0,5 л воды. В среднем в один таз собирается икра от 15 самок. При среднем объёме порции сцеженной спермы от одного самца речной пеляди 0,33 мл общий объём от трёх самцов составит 4,95 мл. Средняя концентрации спермиев в эякуляте 6,70 млрд шт./мл. Значит, в таз добавляется не менее 33 млрд спермиев. При разбавлении 0,5 л воды концентрация спермиев в тазу составит 66 млрд шт./л. Такая концентрация спермы в воде превышает в 70 раз необходимую концентрацию для максимального оплодотворения икры. Возможно, избыточное количество спермы от разных самцов оправдано с позиций обеспечения генетического разнообразия потомства. Однако, в рыбоводной практике может возникнуть ситуация, когда самцов недостаточно, или самцы дают небольшое количество спермы. Объём одной капли спермы составляет 0,035-0,040 мл, при средней концентрации спермиев речной пеляди 6,7 млрд шт./мл количество спермиев в капле составит 234 млн шт. Для достижения концентрации 920 млн шт./л в тазу с икрой достаточно будет добавить 4 капли

спермы. Но, к таким объемам спермы рекомендуется прибегать только в особых случаях.

3.2.4 Зависимость оплодотворяющей способности спермиев от продолжительности хранения

С дефицитом спермы сиговых рыб рыбоводы сталкиваются относительно редко, так как самцы находятся в «текущем» состоянии весь нерестовый период, что позволяет их использовать в рыбоводном процессе многократно. Биотехника хранения спермы становится актуальной при проведении селекционно-племенной работы и в случае перевозки спермы для получения промышленных гибридов. Возможность хранения спермиев рыб в при слабopолжительной температуре была изучена на осетровых [133], сельдевых [134, 135] лососевых [136, 137], карповых рыбах [46, 138]. Возможность хранения половых продуктов самцов чира, речной и озёрной пеляди рассматривалась Л.В. Кугаевской [7].

Цель – выявить зависимость оплодотворяющей способности спермиев сиговых рыб от продолжительности их хранения во влажной воздушной среде при слабopоложительной температуре.

Материалом для исследования служила сперма речной пеляди. Опыты проводили в октябре 2013 г. на рыбоводном пункте «Рахтынья» во время массового нереста. Для оценки изменения качества спермы при её хранении было проведено три серии, включающие 28 опытов. Объем эякулята одного самца речной пеляди недостаточен для проведения отдельной серии опытов. В связи с этим, в каждой серии использовали смесь спермы от 10-15 самцов. Сперму отцеживали насухо в чашку Петри. При этом следили за тем, чтобы в пробу не попадали кровь, вода, фекалии или чешуя. После тщательного перемешивания сперму делили при помощи пипетки-дозатора на 9 порций объемом 1,5 мл каждая. Затем порции заливали в пластиковые пробирки объемом 10,5 мл и плотно закрывали пробкой. Пробирки со спермой хранили в изотермическом ящике при температуре 0,5-1,0°C. Динамику качества спермы в процессе хранения

оценивали по изменению её оплодотворяющей способности. С этой целью порции хранящейся спермы с суточным интервалом последовательно использовали для осеменения свежих порций яиц от одной полноценной самки. Сперму в пробирке перед использованием обязательно перемешивали. Количество яиц в порции – около 200 шт., объём спермы – 0,1 мл. В качестве контроля служили яйца, используемая в опытах, осеменённая смесью свежей спермы от 4-5 самцов. Контрольная оценка качества яиц осуществлялась для каждого опыта отдельно.

В каждом опыте полученная величина оплодотворяемости отражает не только текущую способность спермиев к оплодотворению, но и оплодотворяемость яиц, используемых для тестирования спермы. Поэтому для того, чтобы отразить в результатах долю яиц, неоплодотворённых именно в связи со снижением качества спермы при хранении, в каждом опыте за 100%-ную оплодотворяемость условно принималась величина, полученная после вычитания из общей оплодотворяемости яиц контрольного значения этого показателя для конкретного опыта. Оплодотворяемость яиц в контроле составляла от 87 до 99%, со средним значением 96%.

Количество оплодотворённых нормально развивающихся яиц в опытах со спермой определялось методом бокового прижизненного микросопирования. Первая проба отбиралась перед началом хранения. В течение каждого опыта параллельно регистрировали продолжительность поступательного движения и общую продолжительность движения, и долю движущихся спермиев по стандартной методике.

Как и следовало ожидать, в опытах при увеличении продолжительности хранения оплодотворяющая способность и продолжительность движения спермиев постепенно снижались. Кроме этого, сокращение продолжительности движения сопровождалось и уменьшением доли движущихся спермиев. Во всех сериях наблюдалась высокая доля оплодотворённых яиц до тех пор, пока в опытных пробах спермы чётко выделялся период поступательного движения, а

доля движущихся спермиев была не менее 80% (рисунок 62, таблица 22). В частности, в первой серии в течение шести суток хранения продолжительность поступательного движения спермиев была в пределах 80-110 с, доля движущихся выше 80%, в этот период доля оплодотворённых яиц в пробах составляла 99-100%. Во второй и третьей сериях опытов доля оплодотворённых яиц, продолжительность поступательного движения и доля движущихся спермиев на уровне контроля сохранялись в течение трёх и четырёх суток соответственно. С увеличением продолжительности хранения в сериях происходило резкое сокращение доли поступательно двигающихся спермиев, что проявлялось в снижении их оплодотворяющей способности. Так, в первой серии на шестые сутки хранения продолжительность поступательного движения спермиев составляла 93 с, оплодотворяемость – 100%. Через сутки в пробе наблюдалось только колебательное движение у 50% спермиев, а доля оплодотворённых яиц снизилась до 69%. Аналогичная картина наблюдалась во второй и третьей сериях. В частности, отсутствие поступательного движения во второй и третьей сериях наблюдалось на четвёртые и пятые сутки хранения соответственно. В эти же дни отмечался спад оплодотворяющей способности спермиев на 16 и 21% соответственно в сравнении со значением за предыдущие сутки хранения. При последующем хранении в течении 1-3 суток в пробах наблюдалось только колебательное движение незначительной части спермиев (10-25%). В этот же период доля оплодотворённых яиц резко сократилась во всех сериях до 5-15%. В частности, в первой серии на восьмые сутки хранения продолжительность колебательного движения составляла 98 с у 10% спермиев, а оплодотворяющая способность спермиев – 15%. Во второй и третьей сериях на седьмые сутки хранения продолжительность колебательного движения составляла 34 с у 10% и 56 с у 25% спермиев соответственно, а доля оплодотворённых яиц в пробах – 5 и 13% соответственно. При полном отсутствии двигательной активности спермиев во всех трёх сериях оплодотворённые яйца не отмечались. Так, в первой серии отсутствие оплодотворённых икринок в опыте наблюдалось на девят-

тые сутки хранения, во второй и третьей – на восьмые сутки. Тесная связь между двигательной активностью спермиев и их способностью к оплодотворению ранее показана рядом автором для рыб вообще, и для сиговых, в частности [102, 77].

Таким образом, по результатам трёх серий опытов, при хранении в описанных условиях, сперма речной пеляди не утрачивает оплодотворяющей способности не менее двух суток. Постепенное снижение качества спермы происходит при длительности хранения от 3 до 8 суток. Оплодотворение яиц спермой, хранящейся свыше 8 суток, не происходит. Снижение оплодотворяющей способности спермиев при хранении сопровождается уменьшением их двигательной активности в момент активации.

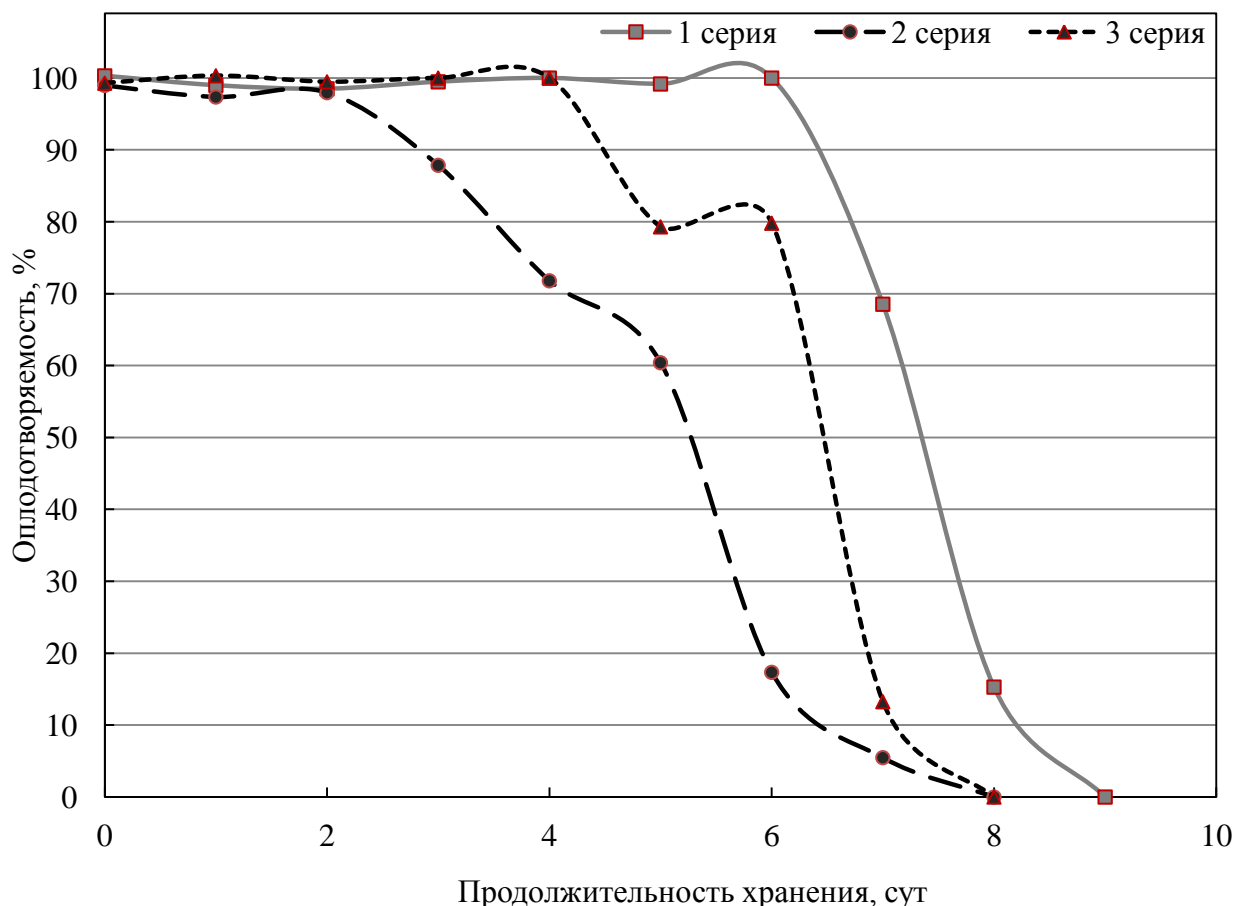


Рисунок 62 – Динамика оплодотворяющей способности спермиев речной формы пеляди в процессе хранения в воздушной среде при температуре 0,5-1,0°C. Величины оплодотворяемости приведены с учётом контрольных значений этого показателя для каждого опыт

Таблица 22 – Динамика оплодотворяющей способности, продолжительности движения и доли движущихся спермиев речной пеляди в процессе хранения в воздушной среде при температуре 0,5-1,0°С

Продолжительность хранения, сут	1 серия				2 серия				3 серия			
	Продолжительность движения спермиев, с		Доля движущихся спермиев, %	Доля оплодотворённых яиц*, %	Продолжительность движения спермиев, с		Доля движущихся спермиев, %	Доля оплодотворённых яиц*, %	Продолжительность движения спермиев, с		Доля движущихся спермиев, %	Доля оплодотворённых яиц*, %
	поступательного	общего			поступательного	общего			поступательного	общего		
0	97	192	95	100	90	228	95	99	127	205	95	99
1	105	210	95	99	110	250	95	97	131	198	95	100
2	89	241	95	99	124	208	95	98	185	210	95	99
3	110	240	90	99	89	210	90	88	109	224	90	100
4	111	250	90	100	0	120	80	72	84	124	90	100
5	79	214	90	99	0	110	80	60	0	161	80	79
6	93	237	80	100	0	50	50	17	0	100	70	80
7	0	118	50	69	0	34	10	5	0	56	25	13
8	0	98	10	15	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-

Примечание * - доля оплодотворённых яиц в опыте приведена с учётом контрольных значений этого показателя для каждого опыта

По данным Л.В. Кугаевской [7], оплодотворяющая способность спермиев речной пеляди, хранящихся в сухих ёмкостях при температуре 1,5-2,5°C, сохраняется на уровне контроля 97,5-98,2% в течение пяти суток. Аналогичный результат был получен нами в первой серии опытов.

Таким образом, сперма речной пеляди, хранящаяся во влажной воздушной среде и температуре 0,5-1,0°C, не утрачивает оплодотворяющей способности не менее двух суток с момента отбора. Постепенное снижение оплодотворяющей способности спермы происходит при длительности хранения 3 – 8 суток. Сперма, хранящаяся свыше 8 суток, не способна обеспечить оплодотворение икры. Снижение оплодотворяющей способности хранящихся спермиев сопряжено с затуханием их двигательной активности.

Анализ результатов опытов позволяет дать практические рекомендации для отработки биотехники хранения половых продуктов сиговых рыб. В частности, при необходимости, можно эффективно использовать для рыбоводных целей сперму пеляди, хранящуюся в сухой посуде при температуре близкой к 0°C (например, на смоченном льду) не менее трёх суток. При использовании спермы после более длительного хранения (4-6 суток) целесообразно предварительно оценивать двигательную активность сперматозоидов.

Данные рекомендации были апробированы на половых продуктах муксуна, доставленных с базы сбора «Томкатка» (р. Обь, Октябрьский р-н ХМАО) до лаборатории отдела воспроизводства рыбных запасов Госрыбцентра (г. Тюмень) в ноябре 2008 г. Овулировавшие яйца и сперма хранились во влажной воздушной среде в изотермическом ящике при температуре 0,2-1,0°C, при этом качество половых продуктов не снижалось в течении 6 суток от момента сбора. Результаты опытов по хранению спермы муксуна и чира были также использованы в 2014 г. при получении промышленных гибридов на базах сбора икры на оз. Ендырь и Царёво.

Глава 4 Зависимость продолжительности одного митотического цикла в период синхронного дробления бластодиска зародышей сиговых рыб от температуры

Эффективность рыбоводно-технологических мероприятий в период инкубации икры зависит от корректной оценки степени развития зародышей рыб. Скорость эмбрионального развития рыб определяется, главным образом, температурой среды [122]. Поэтому возраст зародышей, оцениваемый в астрономических единицах времени без учёта температурного фактора, не является достаточной характеристикой их степени развития. Оценивать степень развития зародышей рыб по сумме «накопленного тепла», выраженного в градусо-днях также неприемлемо, так как скорость биологических процессов, в том числе и эмбриогенеза, изменяется с температурой неравномерно, а с некоторым ускорением в соответствии с уравнением Вант-Гоффа. Особенно неудовлетворительные результаты даёт использование градусо-дней при оценке возраста зародышей осенне-зимненерестующих рыб, в частности сиговых, так как основная часть их эмбриогенеза протекает при температурах близких к 0°C. Например, теоретически возможно завершение эмбриогенеза при сумме накопленного тепла равной 0 градусо-дней.

Оценку биологического возраста при любом температурном режиме в зоне толерантных температур можно осуществлять с помощью безразмерной характеристики τ_0 [139]. Эта величина соответствует продолжительности одного митотического цикла в период синхронных дроблений бластодиска при определённой температуре. Частное от абсолютной продолжительности какого-либо периода развития τ_n (в минутах) и величины τ_0 (в минутах) при той же температуре соответствует относительной характеристике продолжительности этого периода или любого интервала эмбриогенеза [139, 140].

У сиговых рыб связь между величиной τ_0 и температурой среды была изучена у пеляди, волховского сига и чира [35, 107], а также у байкальского омуля [141]. С остальными видами сиговых рыб, являющихся объектами ак-

вакультуры, аналогичные исследования ранее не проводились. Поэтому новые данные о влиянии температуры на продолжительность одного митотического цикла в период синхронного дробления бластодиска сиговых рыб представляют, как теоретический, так и практический интерес.

Цель – изучить зависимость τ_0 от температуры у сига-пыжьяна, муксуна, тугуна, ряпушки сибирской, озёрной и речной форм пеляди.

Материалом для работ служили зрелые половые продукты сига-пыжьяна, тугуна, муксуна, ряпушки сибирской, озёрной и речной форм пеляди. Опыты с сигом-пыжьяном, ряпушкой сибирской и речной пелядью проводили в октябре 2008-2009 гг. на рыбоводном пункте «Рахтынья». Опыты с тугуном, муксуном и озёрной пелядью проводили в лаборатории Госрыбцентра в 2008 и 2009 гг. Половые продукты тугуна и озёрной пеляди получали от производителей, доставленных в лабораторию с садкового хозяйства «Волковское», где содержится маточное стадо этого вида. Половые продукты муксуна были доставлены с базы рыбоводного пункта «Томкатка» (р. Обь). Ко времени проведения опытов яйца и сперма хранились 2-3 суток на льду.

Всего было проведено с тугуном 15 опытов, с муксуном и ряпушкой сибирской – по 6 опытов, с сигом-пыжьяном – 7 опытов. С речной и озёрной формами пеляди проведено 5 и 6 опытов соответственно. Диапазон исследованных температур для тугуна и сига-пыжьяна находился в интервале от 0,5°C до 12,2°C; для муксуна – от 2,2°C до 10,8°C; для ряпушки сибирской – от 0,5 до 8,0°C; для речной пеляди – 0,1-10,0°C; для озёрной пеляди – 0,5-8,0 °C.

Как и следовало ожидать, минимальное значение τ_0 было отмечено при максимальной температуре в опытах. В частности, продолжительность τ_0 сига-пыжьяна и тугуна при температуре 11,1°C составляла – 193 и 185 мин соответственно; муксуна – при 9,0°C равнялась 220 мин, ряпушки сибирской при температуре 8,0°C – 190 мин. Нарушение процесса дробления бластодиска у тугуна и сига-пыжьяна отмечено при 12,2°C; у муксуна – при температуре 10,8°C. Для ряпушки сибирской данное значение не определено. При снижении температуры продолжительность одного митотического цикла (τ_0)

закономерно возрастала. Так, значение τ_0 сига-пыжьяна, тугуна и ряпушки сибирской при температуре 0,5°C составило 750, 765 и 735 мин соответственно, муксуна – при 2,2°C составило 485 мин (рисунок 63).

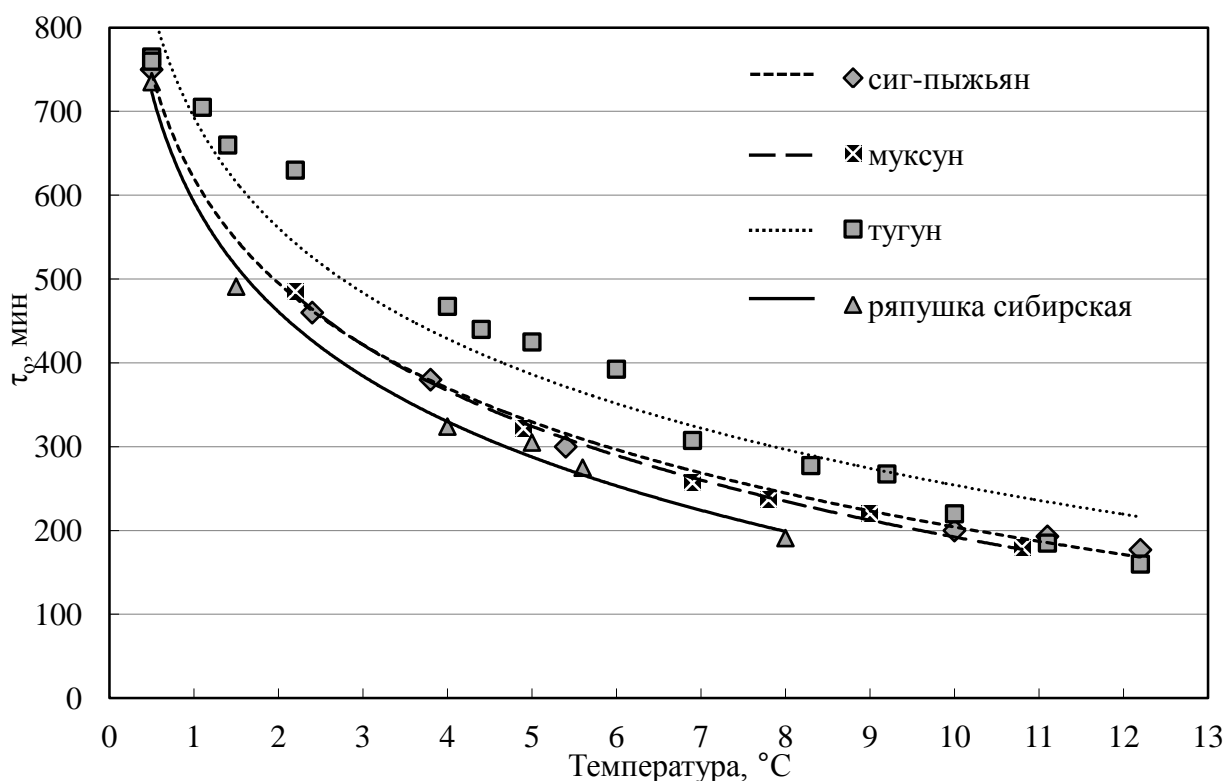


Рисунок 63 – Зависимость величины τ_0 от температуры для сига-пыжьяна, муксуна, тугуна и ряпушки сибирской

По результатам опытов были рассчитаны следующие уравнения (3-6) зависимости τ_0 от температуры (t , °C):

$$\text{для ряпушки сибирской} - \tau_0 = - 189,3 \cdot \ln t + 591,6 \quad (R^2=0,942; n = 6) \quad (3)$$

$$\text{для муксуна} - \tau_0 = - 190,5 \cdot \ln t + 630,9 \quad (R^2=0,979; n = 6) \quad (4)$$

$$\text{для сига-пыжьяна} - \tau_0 = - 180,6 \cdot \ln t + 620,1 \quad (R^2=0,989; n = 7) \quad (5)$$

$$\text{для тугуна} - \tau_0 = - 174,5 \cdot \ln t + 688,0 \quad (R^2=0,951; n = 15) \quad (6)$$

Необходимо отметить, что Г.М. Игнатьева в своих работах не указала экологическую форму пеляди, для которой была определена зависимость продолжительности одного митотического цикла в период дробления бластодиска от температуры. В связи с этим, нами было проведено определение продолжительности τ_0 для речной и озёрной пеляди, а также сопоставления полученных данных с данными Г.М. Игнатьевой [35, 107].

По данным Г.М. Игнатьевой [35, 107], при температуре 10°C значение τ_0 пеляди составляло 170 мин. В наших опытах, значение τ_0 речной пеляди при данной температуре равнялось 180 мин. По данным Г.М. Игнатьевой, при температуре 1,9°C значение τ_0 пеляди составляло 550 мин. По нашим данным, при близкой температуре (2,0°C) значение τ_0 озёрной и речной форм пеляди равнялось 575 и 570 мин соответственно. В целом, кривые зависимости продолжительности дробления бластодиска от температуры обеих экологических форм пеляди оказались сходны между собой и с данными Г.М. Игнатьевой [107] (рисунок 64). После объединения результатов наших опытов и данных Г.М. Игнатьевой [107], уравнение (7) зависимости τ_0 от температуры для обеих форм пеляди будет иметь следующий вид (t , °C):

$$\tau_0 = - 202,2 * \text{Ln } t + 653,2 \quad (R^2=0,976; n = 32) \quad (7)$$

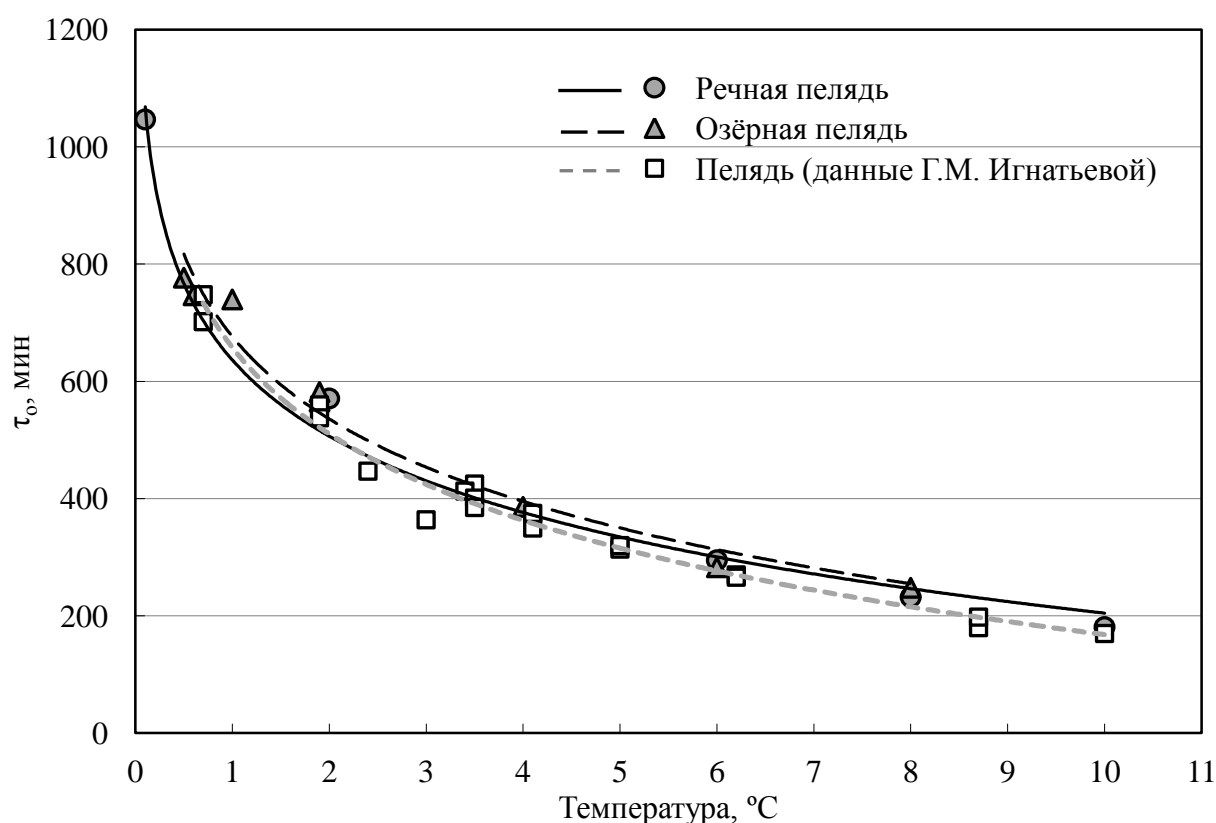


Рисунок 64 – Зависимость величины τ_0 от температуры для речной и озёрной форм пеляди по собственным данным и данным Г.М. Игнатьевой [35]

Продолжительность одного митотического цикла в период синхронного дробления бластодиска у тугуна несколько ниже, чем у других сиговых рыб

Обь-Иртышского бассейна во всем изученном диапазоне температур. Различия можно объяснить особенностями экологии тугуна. Нерест тугуна в бассейне р. Северной Сосьвы приходится на конец сентября – первые числа октября [142]. Остальные сиговые рыбы нерестятся в этом бассейне со второй декады октября до середины ноября, т. е. на 2-5 недель позже. Сроки выклева большинства сиговых рыб существенно не отличаются и приходятся на момент ледохода [143]. Поэтому тугун в природе имеет самый продолжительный период эмбрионального развития и первые этапы эмбриогенеза проходят при более высокой температуре, чем у остальных сиговых. Более низкий «темп» эмбриогенеза тугуна в равных температурных условиях нивелирует степень развития зародышей тугуна в момент вылупления по сравнению с другими сиговыми.

Несмотря на различия в экологии размножения, зависимость продолжительности величины τ_0 обеих экологических форм пеляди сходна. Данный вывод также подтверждается одинаковым биологическим возрастом эмбрионов обеих форм пеляди при переходе на первый личиночный этап (смешанный тип питания) – $355 \tau_n/\tau_0$.

Тем не менее, для широкого применения в сиговодстве данной методики необходимо знать не только уравнения определяющие зависимость темпа дробления бластодиска от температуры для ряда сиговых рыб, но и соответствие стадий и этапов эмбрионального развития биологическому возрасту зародышей, выраженному при помощи безразмерной характеристики τ_0 .

Для определения биологического возраста на момент наступления этапов и стадий развития в лаборатории Госрыбцентра были проинкубированы в термостатированных аквариумах яйца чира. Температура инкубации составляла 0,5-1,5°C. Ежедневно проводили регистрацию температуры и стадии развития эмбриона. Этапы и стадии приведены по Ж.А. Черняеву [27] и Л.В. Кугаевской и Л.Л. Сергиенко [41, 144]. Соответствие этапов и стадий развития биологическом возрасту чира приведено в таблице 23.

Таблица 23 – Этапы и стадии эмбрионального развития чира и их продолжительность

№ ста- дии	Основные признаки стадий	Начало стадии, τ_n/τ_0
Этап I – Образование бластодиска		
1	Осеменение и оводнение икры, отделение яйцевой оболочкой от желточного мешка и образование перивителлиновой полости	0
2	Образование бластодиска	1
Этап II – Дробление бластодиска		
3	Образование от 2 до 16 бластомеров	2
4	Крупноклеточная морула	6
5	Среднеклеточная морула	9
6	Мелкоклеточная морула	14
Этап III – Гастрюляция		
7	Образование полости бластоцеля	28
8	Обрастание бластодермой 1/3 желтка	33
Этап IV – Органогенез. Закладка головного и туловищного зачатков		
9	Обрастание $\frac{3}{4}$ желтка	45
10	Замыкание желточной пробки	54
11	Появление 6-8 пар сомитов	59
12	Появление 10-14 пар сомитов. Образование трёх мозговых пузырей	68
13	Появление 17-20 пар сомитов. Начало образования хрусталика глаза	71
14	Появление 23-25 пар сомитов. Закладка сердечной трубки	83
15	Появление 28-30 пар сомитов. Образование хвостовой почки	93
Этап V – Отчленение туловищно-хвостового отдела от желтка и образование хвоста		
16	Появление 38-40 пар сомитов. Появление зачатков грудных плавников	104
17	Начало пигментации глаз	108
Этап VI – Появление системы кровообращения		
18	Начало сокращения сердечной трубки и отделения головы от желтка	124
19	Глаза темно-серые. Закладка жаберных плакод. Появление зерен меланина по бокам тела	141
20	Появление кровеносных сосудов на желточном мешке и зерен меланина на кишечной трубке	155
Этап VII – Появление кардинального кровообращение		
21	Появление гуанина в глазах	169
22	Появление 60-64 пар сомитов. Голова отделяется от желтка. Появление желез вылупления	190
23	Начало кровообращения в жаберных дугах	205
24	Начало движения грудных плавников	220
25	Подвижное состояние грудных плавников. Начало пигментации больших полушарий среднего мозга	232
26	Начало движения жаберно-челюстного аппарата. Начало вылупления	260
27	Закладка жаберных лепестков на жаберных дугах. Массовое вылупление	322
28	Начало кровообращения в жаберных лепестках. Окончание эмбриогенеза, переход на смешанный тип питания	345

Таким образом, продолжительность эмбриогенеза чира составляет $345\tau_n/\tau_o$. По нашим данным, эмбрионы других сиговых рыб (сиг-пыжьян, муксун, тугун, пелядь) завершают эмбриональное развитие при аналогичном биологическом возрасте 340-365 τ_n/τ_o [145]. Данными представленной таблицы 23 можно ориентироваться при работе с другими видами сиговых рыб [146, 144, 147].

Полученные уравнения позволяют моделировать скорость и длительность эмбриогенеза сиговых рыб в любом температурном режиме в пределах экологической валентности вида.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования выявлены функциональные связи между параметрами среды и репродуктивной функцией сиговых рыб Обь-Иртышского бассейна, позволяющие обосновать совершенствование биотехники сбора икры, включая соответствующую работу с производителями. Результаты исследований позволили сделать следующие выводы:

1) Оплодотворение яиц сиговых при контакте со спермой происходит менее, чем за одну минуту и может протекать в овариальной жидкости без добавления воды.

2) Продолжительность оводнения яиц сиговых рыб в диапазоне биотехнологических температур 0,5-2,0°C составляет для тугуна и обеих экологических форм пеляди 1,5-2,0 ч; сига-пыжьяна и муксуна – 2,5-3,0 ч; для чира – 4,0 ч.

3) Прочность оболочек яиц всех сиговых рыб стабилизируется через сутки после активации яиц на уровне, близком к максимальному.

4) Существует прямая зависимость между диаметром оводнённого яйца сиговых и величиной рН воды, используемой для оводнения.

5) Максимальная прочность яичевых оболочек наблюдается при развитии яиц в воде с величиной рН 6,5-7,0 единиц.

6) После завершения процесса оводнения упрочнение внешней оболочки яиц речной пеляди возможно во влажной воздушной среде без контакта с водой.

7) Объём единовременно продуцируемой порции эякулята сиговых рыб существенно изменяется в течение нерестового периода. Максимальные значения этого показателя регистрируются в период массового созревания гонад самок.

8) В зоне температур массового нереста 0,1-5,0°C средние значения общей продолжительности двигательной активности и продолжительности

поступательного движения спермиев для всех сиговых рыб составляют 331 ± 107 с и 149 ± 44 с соответственно.

9) Межвидовая вариабельность продолжительности движения спермиев после активации нарастает при отклонении температуры от зоны верхнего предела нерестовых температур ($5-7^{\circ}\text{C}$) как в сторону 0°C , так и в сторону верхнего температурного порога дробления бластодиска.

10) Спермии сиговых потенциально способны к максимально эффективному оплодотворению яиц в течение 1,5 мин после активации при температуре воды 1°C .

11) Спермии сиговых сохраняют способность к оплодотворению после перехода в фазу колебательного движения, но фертильность при этом последовательно снижается в 2-20 раз по сравнению с фазой поступательного движения.

12) Минимальная концентрация спермиев, способная обеспечить максимальную величину оплодотворяемости яиц, – около 1 млрд шт./л.

На основе проведённой работы предложены практические рекомендации:

1) При технологической необходимости возможен ежедневный отбор эякулята у одних и тех же самцов. В случае достаточного количества самцов, целесообразно разделить их на две группы и использовать для отбора спермы в рыбоводных целях поочередно.

2) При дефиците текучих самцов допустимо сокращение количества спермы до 6-10 капель, добавляемой на 1,5 л икры – нормативному объёму икры, отцеживаемой в один таз. Данный объём спермы гарантировано обеспечивает эффективное оплодотворение яиц.

3) Временной интервал с момента добавления воды в смесь половых продуктов до начала промывания икры может быть ограничен 1,5 мин.

4) Яйца речной пеляди, сига-пыжьяна и тугуна наиболее уязвимы к механическим воздействиям через 80 мин после активации водой, муксуна – 120 мин, чира – 200 мин при температуре 1°C.

5) Биотехнические мероприятия, связанные с риском механического повреждения яиц (подсчёт, раскладка в транспортную тару, перевозка), целесообразно проводить через сутки после их активации, а не через 6–8 ч, как это принято в соответствии с действующими технологическими нормами.

6) Для рыбоводных целей можно эффективно использовать яйца и сперму пеляди, хранящуюся в сухой посуде при температуре близкой к 0°C (например, на смоченном льду) не менее трёх суток. При использовании спермы после более длительного хранения (4 – 6 суток) целесообразно предварительно оценивать двигательную активность сперматозоидов, а при работе с яйцами – оценивать их способность к оводнению.

7) Для корректной оценки размеров яиц сиговых рыб необходимо учитывать величину рН воды, используемой для оводнения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Яндовская Н.И, Гальнбек А.И. Методические указания по сбору и инкубации икры сиговых. Л., 1959. 29 с.
2. Головков Г.А., Кузьмин А.Н. Биология пеляди и биотехника её разведения. М.: Рыбное хозяйство, 1963. 54 с.
3. Головков Г.А. Сибирский сиг-пелядь как объект озёрного и прудового хозяйства // Рыбное хозяйство. 1955. №12. С.53-54.
4. Головков Г.А. Выращивание пеляди в прудах // Тр. Обь-Тазовского отделения ГосНИОРХ. 1963. Т.3. С.165-179.
5. Турдаков А.Ф., Никитин А.А. Инкубация икры и подращивание личинок севанских сигов. Фрунзе: Илим, 1972. 35 с.
6. Кугаевская Л.В. Некоторые особенности биотехники разведения чира // Тезисы докладов Второго Всесоюз. совещ. по биол. и биотехн. разведения сиговых рыб. Петрозаводск, 1981. С.192-196.
7. Кугаевская Л.В. Биологические аспекты совершенствования технологии промышленного сбора и инкубации икры сиговых рыб // Сб. науч. тр. ГосНИОРХ. 1985. Вып. 233. С.85-97.
8. Вотинцов Н.П. Муксун – как объект искусственного разведения и акклиматизации // Тр. Обь-Тазовского отделения ГосНИОРХ. 1963. Т.3. С.115-137.
9. Черняев Ж.А., Коваленко В.И., Кружалина Е.И., Овчинникова Т.И., Дмитриев И.Л. Методические указания по сбору и хранению икры сиговых рыб на временных рыбоводных пунктах, ее транспортировке и инкубации. М.:ИЭМЭЖ, 1987. 82 с.
10. Казаков Р.В., Волошенко Б.Б. Характеристика половых продуктов самцов муксуна, разводимого в водоемах Северо-Запада // Тр. ГосНИОРХ. 1979. Вып. 139. С.106-111.

11. Кузьмин А.Н. Развитие воспроизводительной системы у самок чира [*Coregonus nasus* (Pallas)], выращиваемых в прудах и озёрах Северо-Запада СССР // Вопросы ихтиологии. 1969. Т.9. Вып. 2(55). С.260-269.
12. Кузьмин А.Н., Чуватова А.М. Половое созревание и анализ нарушений гаметогенеза у самцов чира – *Coregonus nasus* (Pallas) при выращивании их в прудах и озерах Северо-Запада СССР // Вопросы ихтиологии. 1970. Т.10. Вып. 1(60). С.69-82.
13. Ефанов Г.В. Оценка самцов ендырской пеляди селекционного стада // Сб.науч.тр. ГосНИОРХ. 1978. Т.134. С.146-149.
14. Ефанов Г.В. Рыбоводно-биологическая характеристика самцов ендырской пеляди // Сб. науч. тр. ГосНИОРХ. 1980. Вып. 153. С.27-36.
15. Ефанов Г.В. Влияние возраста на некоторые репродуктивные признаки самцов пеляди // Сб. науч. тр. ГосНИОРХ. 1983. Вып. 203. С.100-106.
16. Мишарин К.И. Естественное размножение и искусственное разведение посольского омуля на Байкале // Изв. био.-географ. н.-и. ин-та при Иркут. ун-те. 1953. Т.14. Вып. 1-4. 148 с.
17. Мишарин К.И. Искусственное разведение байкальского омуля // Вопросы ихтиологии. 1960. Вып. 15. С. 111-117.
18. Головков Г.А. Первый опыт разведения чира // Рыбоводство и рыболовство. 1962. №5. С.10-13.
19. Головков Г.А., Коровина В.М., Лебедева Л.И., Салазкин А.А., Черникова В.В. Чир (*Coregonus nasus* Pallas) и перспектива его использования в рыбоводстве // Изв. ГосНИОРХ. 1967. Т.63. С. 41-56.
20. Семенченко С.М. Итоги внедрения экологического метода сбора икры сиговых рыб в Обь-Иртышском бассейне // Биология, биотехника разведения и состояние запасов сиговых рыб. Мат-лы седьмого международного науч.-произв. совещ. 16-18 февраля 2010 г. Тюмень, 2010. С. 254-261.

21. Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб / Под ред. проф. П.А. Дрягина и канд. биол. наук В.В. Покровского. М.: Пищевая промышленность, 1966. 298 с.
22. Чугунова Н.И. Методика изучения возраста рыб: Учебное пособие для Вузов. М.: Сов. наука, 1952. 115 с.
23. Сакун О.Ф., Буцкая Н.А. Определение стадии зрелости и изучение половых циклов рыб. Мурманск: Главрыбвод, 1963. 47 с.
24. Смешливая Н.В. Взаимосвязь диаметра икры и размеров самок сиговых рыб Обь-Иртышского бассейна / Смешливая Н.В., Семенченко С.М. // Биология, биотехника разведения и состояние запасов сиговых рыб. Мат-лы седьмого международного науч.-произв. совещ. 16-18 февраля 2010 г. Тюмень, 2010. С. 271-274.
25. Черняев Ж.А. Воспроизводство байкальского омуля. М.: Легкая и пищевая пром-ность, 1982. 128 с.
26. Черняев Ж. А. Метод бокового микроскопирования с применением вертикальной камеры для прижизненного развития икры рыб // Исследования размножения и развития рыб. М.: Наука, 1981. С.216-222.
27. Черняев Ж. А. Эмбриональное развитие байкальского омуля. М.: Наука, 1969. 91 с.
28. Зайцев Ю.П. Механическая прочность икры хамсы и связанные с ней особенности размножения // Вопросы ихтиологии. 1959. Вып. 12. С.89-91.
29. Зотин А.И. Физиология водного обмена у зародышей рыб и круглоротых. М.: Изд-во АН СССР, 1961. 320 с.
30. Гомелюк В.Е., Маркевич А.И. О прочности оболочек икры волосатой рогатки *Hemitripterus villosus* (Pallas) (*Cottidae*) // Вопросы ихтиологии. 1985. Т.25. Вып. 4. С.690-692.
31. Смешливая Н.В. Динамика прочности овулировавших яиц сиговых рыб (*Coregonidae*) Обь-Иртышского бассейна после активации водой / Смешливая Н.В., Семенченко С.М. // Вопросы рыболовства. 2015. Т. 16. № 3. С. 359-366.

32. Казаков Р.В. Определение качества половых продуктов самцов рыб (методические указания). Л.: ГосНИОРХ, 1978. 15 с.
33. Kouřil J., Mikodina E., Mikulin A., Lubayev V., Skerik J., Svinger V. Different sensitivity between adult salmonids fish species and grayling to an anaesthetic clove oil // Aquaculture Europe Abstracts. EAS, Trondheim (Norway), CD-ROM. 2009. 2 p.
34. Смешливая Н.В., Семенченко С.М. Динамика объёма эякулята сиговых рыб *Coregonidae* в течение нерестового сезона // Вестник рыбохозяйственной науки. 2015. Т.1. №1(5). С.78-84.
35. Игнатъева Г.М. Ранний эмбриогенез рыб и амфибий. М.: Наука, 1979. 173 с.
36. Лакин Г.Ф. Биометрия: Учебн. пособие для биологич. спец. вузов. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.
37. Smeshlivaya N. Dependence of whitefish hydrated eggs on the water pH / Smeshlivaya N., Semenchenko S. // Abstracts 12th international symposium on the biology and management of coregonid fishes 25-30 August, 2014. Иркутск, ООО «Издательство «Аспринт», 2014. С. 70.
38. Смешливая Н.В. Влияние водородного показателя среды на диаметр оводнённых яиц сиговых рыб *Coregonus* / Смешливая Н.В., Семенченко С.М. // Вестник рыбохозяйственной науки. 2014. Т.4. № 4 (4). С. 73-77.
39. Лебедева О.А. Развитие икры и личинок пеляди *Coregonus peled* // Сб. науч. тр. ГосНИОРХ. 1985. Вып. 236. С.74-85.
40. Лебедева О.А. Эмбриональное развитие чира *Coregonus nasus* Pallas и муксуна *Coregonus muksun* Pallas // Сб. науч. тр. ГосНИОРХ. 1982. Вып. 185. С.92-113.
41. Кугавеская Л.В., Сергиенко Л.Л. Определение вида развивающейся икры рыб рода *Coregonus* (Linnaeus) бассейна Нижней Оби // Сб. науч. тр. ГосНИОРХ. 1988. Вып. 284. С.52-63.
42. Галактионова Е.Л. Создание и эксплуатация маточных стад пеляди на Урале в связи с особенностями её естественного и искусственного

воспроизводства в данном регионе // Опыт пром. рыбоводства в Челябинской области. Челябинск: Южно-Уральское изд-во, 1975. С.147-168.

43. Лебедева О.А. Влияние активной реакции среды на ранний онтогенез сиговых рыб // Тезисы докладов четв. всесоюз. совещ. по биол. и биотех. разведения сиговых рыб (ноябрь 1990 г. Вологда). Ленинград, 1990. С.10-12.

44. Билько В.П. Влияние рН среды на оплодотворяемость икры разного качества // Разнокачественность раннего онтогенеза у рыб. Киев: Наук. думка, 1974. С.170-179.

45. Minh Hoang Le, Han Kyu Lim, Byung Hwa Min, Mi Seon Park, Maeng-Hyun Son, Jung Uie Lee, Young Jin Chang. Effects of varying dilutions, pH, temperature and cations on spermatozoa motility in fish *Larimichthys polyactis* // Journal of Environmental Biology. 2011. Vol.32. P.271-276.

46. Киселёв И.В. Биологические основы осеменения и инкубации клейких яиц рыб. Киев: Наук. думка, 1980. 296 с.

47. Смешливая Н.В., Семенченко С.М. Влияние температуры на длительность оводнения икры сиговых рыб Обь-Иртышского бассейна // Аквакультура Европы и Азии: Реалии и перспективы развития и сотрудничества. Материалы международной науч.-практ. конференции г. Улан-Удэ, 1-7 августа 2011 г. Тюмень: ФГУП Госрыбцентр, 2011. С.172-175.

48. Турадков А.Ф. Размножение и развитие исык-кульского чебачка. Фрунзе: Илим, 1965. 92 с.

49. Сергиенко Л.Л. Оценка качества икры сиговых рыб // Вестник рыбохозяйственной науки. 2015. Т.2. №1(5). С.66-68.

50. Семенченко С.М., Дзюменко Н.Ф., Покровский В.С., Семенченко И.В. Модификация объемного метода подсчета икры рыб // Тр. ГосНИОРХ. 1989. Вып. 293. С.139-144.

51. Bonislawska M., Formicki K., Winnicki A. Size of eggs and duration of embryogenesis in fishes // Acta ichthyologica et piscatoria. 2000. 30(1). P.61-71.

52. Мейен В.А. О причинах колебания размеров икринок костистых рыб // Докл. АН СССР. 1940. Т.28. Вып. 7. С.654-656.

53. Семёнов К.И. Биологическая разнокачественность икры осетра и её влияние на развитие личинок в условиях искусственного разведения // Вопросы ихтиологии. 1963. Т.3. Вып. 1. С.99-112.

54. Дуварова А.С. Связь изменчивости размера овулировавших икринок с их качеством у растительноядных рыб // Сб. науч. тр. ВНИИПРХ. 1980. Вып. 28. С.70-83.

55. Слуцкий Е.С. Изменчивость диаметра икринок у белого толстолобика // Известия ГосНИРОХ. 1973. Т.85. С.10-16.

56. Жукинский В.Н., Дьячук И.Е. Зависимость биометрических показателей овулировавших икринок от некоторых биологических показателей самок тарани и краснопёрки // Вопросы ихтиологии. 1964. Т.4. Вып. 2(31). С.293-303.

57. Князева Л.М., Костюничев В.В. Рыбоводно-биологическая характеристика ремонта и производителей сиговых рыб, выращиваемых в садках на искусственных кормах // Сб. науч. тр. ГосНИОРХ. 2005. Т.333. С.13-43.

58. Савостянова Г.Г., Слуцкий Е.С. О размерности икринок радужной форели // Известия ГосНИОРХ. 1974. Т.97. С.159-167.

59. Галасун П.Т., Булатович М.А., Алымов С.И. Плодовитость и размерность икринок радужной форели в различных типах хозяйств // Рыбное хозяйство. 1983. Вып. 36. С.20-24.

60. Рыбаков Ф.Ю. Изменчивость размеров овулировавшей икры пестрого толстолобика, выращенного в различных экологических условиях // Рыбное хозяйство. 1983. Вып. 36. С.24-30.

61. Андрияшева М.А. Рыбоводно-биологическая характеристика производителей ендырьской пеляди // Изв. ГосНИОРХ. 1976. Т.107. С.64-75.

62. Андрияшева М.А., Черняева Е.В. Уровень фенотипической и генетической изменчивости диаметра овулировавших икринок у ендырьской пеляди (*Coregonus peled* Gm.) // Изв. ГосНИОРХ. 1978. Т.130. С.25-34.

63. Тищенко Ю.Ф. Изменчивость овулировавших икринок чудского сига (*Coreginos maraenoides* Pol.) // Изв. ГосНИОРХ. 1976. Т.107. С.86-97.
64. Решетников Ю.С. Экология и систематика сиговых рыб. М.: Наука, 1980. 300 с.
65. Москаленко Б. К. Сиговые рыбы Сибири. М.: Пищевая промышленность, 1971. 184 с.
66. Güner Y., Bayrak H., Güleç F. The effect of water temperature on spawning out of season in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* // Proceedings of 3rd International Symposium on Sustainable Development, May 31 - June 01 2012, Sarajevo. International Burch. P.72-82
67. Billard R., Reinaud P., Le Brenn P. Effects of changes of photoperiod on gametogenesis in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) // *Reprod. Nutr. Develop.* 1981. №21(6A). P.1009-1014.
68. Hoover E.E., Hubbard H.G. Experimental modification of sexual cycle in trout by control of light // *Science N.Y.* 1937. №86. P.425-426.
69. Павлов Д.А., Радхизовская Е.К. Особенности биологии размножения беломорской зубатки *Anarhihas lupus marisalbi* (по данным экспериментальных исследований // *Вопросы ихтиологии.* 1991. Т.31. Вып. 3. С.433-441.
70. Singh R., Chaturvedi C.K., Abhinav Effect of photoperiod and temperature on testicular regression in *Channa punctatus* // *Journal of Environmental Biology.* 2010. V.31. P.307-310.
71. Павлов Д.А. Морфологическая изменчивость в раннем онтогенезе костистых рыб и её эволюционное значение: Дисс...док.биол.наук. М., 2004. 309 с.
72. Крупкин В.З. О некоторых биологических особенностях муксуна при выращивании его за пределами ареала // *Известия ГосНИОРХ.* 1975. Т.104. С.50-64.

73. Коган В.А. Влияние температуры на некоторые стороны эмбриогенеза гидробионтов (математический анализ): Дисс...канд.биол.наук. М., 1984. 123 с.

74. Слуцкий Е.С. Об изменчивости некоторых рыбоводных признаков у самок белого амура на Цимлянском нерестово-выростном хозяйстве // Труды Волгоградского отделения ГосНИОРХ. 1971. Т.5. С.157-172.

75. Щербенок Ю.И., Михель А.Е., Криштофович Е.Н., Верхованцева А.Г. Рыбоводно-биологическая характеристика радужной форели в связи с разными сроками созревания самок в нерестовом сезоне // Сб. науч. трудов ВНИИПРХ. 1982. Вып. 33. С.147-157.

76. Андрияшева М.А. Генетические аспекты разведения сиговых рыб. СПб: ФГНУ ГосНИОРХ, 2011. 639 с.

77. Турдаков А.Ф. Воспроизводительная система самцов рыб. Фрунзе: Илим, 1972. 280 с.

78. Маненкова Г.М. К вопросу о свойствах спермы ладожского сига-лудогги // Изв. ГосНИОРХ. 1974. Т.92. С.94-97.

79. Гинзбург А.С. Оплодотворение у рыб и проблема полиспермии. М.: Наука. 1968. 355 с.

80. Казаков Р.В., Волошенко Б.Б. Сравнительная характеристика качества спермы гибрида пеляди с чиром и родительских видов при разведении в водоёмах Северо-Запада // Сб.науч.тр. ГосНИОРХ. 1979. Т.139. С.94-105.

81. Дроздов А.Л., Иванков В.Н. Морфология гамет животных. М.: Круглый год, 2000. 460 с.

82. Rotheli A., Roth H., Medem F., Elektronoptische Untersuchungen der Strukturveränderung agglutiniertes Fischspermien // Exp. Cell Res. 1950. №1. P.115-126.

83. Alavi SMH., Rodina M., Viveiros A., Cosson J., Gela D., Boryshpolets S., Linhart O. Effects of osmolality on sperm morphology, motility and flagellar wave

parameters in Northern pike (*Esox lucius* L.) // *Theriogenology*. 2009. Vol.72. Issue 1. P.32-43.

84. Alavi SMH., Pšenička M., Policar T., Linhart O. Morphology and fine structure of *Barbus Barbus* (Teleostei: *Cyprinidae*) spermatozoa // *Journal of Applied Ichthyology*. 2008. Vol.4. Issue 4. P.378-381.

85. Sadiqul Islam M., Akhter T. Tale of Fish Sperm and Factors Affecting Sperm Motility: A Review // *Advances in Life Sciences*. 2011. Vol.1(1). P.11-19.

86. Емельянова Н.Г., Павлов Д.А. Ультраструктура гамет некоторых видов семейства Mullidae Южно-Китайского моря // *Вопросы ихтиологии*. 2012. Т.52. №6. С.701-707.

87. Казаков Р.В. Биологическая основы разведения атлантического лосося. М.: Лёгкая и пищевая пром-сть, 1982. 144 с.

88. Казаков Р.В. Зависимость качества спермы самцов атлантического лосося от интенсивности их использования на рыбодных заводах // *Сб.науч.тр. ГосНИОРХ*. 1979. Вып. 139. С.49-61.

89. Aral F., Şahinöz E., Dogu Z. A Study on the Milt Quality of *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1972) and *Carasobarbus luteus* (Heckel, 1843) in Atatürk Dam Lake Southeastern Turkey // *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 2007. №7. P.41-44.

90. Alavi SMH., Pšenička M., Rodina M., Policar T., Linhart O. Changes of sperm morphology, volume, density and motility and seminal plasma composition in *Barbus barbus* (Teleostei: *Cyprinidae*) during the reproductive season // *Aquatic Living Resources*. 2008. Vol.21. P.75-80.

91. Бабушкин Ю.П. О связи качества спермы самцов радужной форели с возрастом и упитанностью производителей // *Сб. науч. тр. ГосНИОРХ*. 1976. Т.113. С.8-10.

92. Бабушкин Ю.П., Савостьянова Г.Г., Чапская М.К. Сравнение качества спермы у производителей разных групп радужной форели // *Сб. науч. тр. ГосНИОРХ*. 1971. Вып. 74 С.117-122.

93. Бабушкин Ю.П. Продуцирование спермы самцами радужной форели разных групп и возрастов // Сб. науч. тр. ГосНИОРХ. 1974. Т.97. С.115-121.
94. Жукинский В.Н. Зависимость качества половых продуктов и жизнестойкости эмбрионов от возраста производителей у тарани. В сб.: Влияние качества производителей на потомство у рыб. Киев, Наук. думка, 1965. С.94-122.
95. Alavi SMH., Rodina M., Policar T., Linhart O. Relationship between semen characteristics and body size in *Barbus Barbus* L (Teleostei: *Cyprinidae*) and effects of ions and osmolality on sperm motility // Comparative biochemistry and physiology. 2009. Vol.153, P.430-437.
96. Турдаков А.Ф. Продуцирование спермы самцами исыккульской форели // Вопросы ихтиологии. 1968. Т.8. Вып. 2(49). С.253-265.
97. Крохалевский В.Р. Некоторые закономерности изменения плодовитости пеляди р. Оби // Сб. науч. тр. ГосНИОРХ. 1980. Вып. 160. С.23-30.
98. Малашкин Н.Н. Методические указания по созданию маточных стад и сбору икры пеляди в озёрных рыбных хозяйствах. Л.: ГосНИОРХ, 1978. 14 с.
99. Отработать биотехнику разведения чира и муксуна в водоёмах Сибири // Заключительный отчёт о НИР СибрыбНИИпроекта. Руководитель темы Л.В. Кугаевская. Тюмень, 1981. 162 с.
100. Григорьев С.С., Седова Н.А. Индустриальное рыбоводство: В 2 ч. Ч. 1. Биологические основы и основные направления разведения рыбы индустриальными методами: Учебное пособие для студентов. Петропавловск-Камчатский: КамчатГТУ, 2008. 186 с.
101. Гинзбург А.С. Время установления контакта спермия с яйцом при оплодотворении у осетровых рыб // Докл. АН СССР. 1957. Вып. 115. №4. С. 845-848.
102. Гинзбург А.С. Соединение гамет без активации у лососевых рыб // Журн. общ. биол. 1963. Т.24. №2. С.106-119.

103. Цуладзе В.Л. Бассейновый метод выращивания лососевых рыб: на примере радужной форели. М.: Агропромиздат, 1990. 156 с.
104. Коровина В.М. Зависимость стойкости зародышей рыб от возраста производителей // Изв. ГосНИОРХ. 1961. Вып. 51. С.118-124.
105. Казаков Р.В., Никандров В.Я. Динамика фертильности зрелых половых продуктов атлантического лосося // Сб. науч. тр. ГосНИОРХ. 1979. №139. С.20-27.
106. Смирнова Е.Н., Кузьмина С.С. Новый мокрый способ осеменения икры рыбца // Рыбное хозяйство. 1966. №11. С.24-26.
107. Игнатьева Г.М. Зависимость темпа дробления яиц карпа, щуки и пеляди от температуры // Онтогенез. 1974. Т.5.№1. С.27-32.
108. Мантельман И.И. Постовулярное преобразование икры пеляди в условиях искусственного воспроизводства // Сб. науч.тр. ГосНИОРХ. 1985. Вып.230. С. 19-24.
109. Львов Ю.Б. Опасность получения перезрелых или незрелых половых продуктов пеляди в условиях карпового инкубационного цеха // Рыбохоз. освоение водоёмов комплексного назначения. Сб. науч. тр. М., 1990. С.64-66.
110. Серпунин Г.Г. Искусственное воспроизводство рыб: Учебник. М.: Колос, 2010. 256 с.
111. Кузьмин А.Н. Опыт оплодотворения икры сиговых после смерти самок // Сб. науч. тр. ГосНИОРХ. 1961. Т. 51. С.60-64.
112. Зотин А.А. Потребление воды развивающимися яйцами лососевых и осетровых рыб из окружающей среды // Вопросы ихтиологии. 1955. Вып. 4. С.82-104.
113. Детлаф Т.А., Гинзбург А.С. Зародышевое развитие осетровых рыб (севрюги, осетра и стерляди) в связи с вопросами их разведения. М.: АН СССР, 1954. 216 с.
114. Кузьмин А.Н. Эмбриональное развитие пеляди // Труды Обь-Тазовского отделения ГосНИОРХ. 1963. Т.3. С.148-164.

115. Семенченко С.М., Семенченко И.В. Влияние фиксации в формалине на длину и вес молоди байкальского омуля // Тез. докл.4-го Всесоюз. совещания по биол. и биотехн. разведения сиговых рыб. Вологда, ноябрь 1990. Л., 1990. С.23-24.
116. Heming T.A., Preston R.P. Differential effect of formalin preservation on yolk and tissue of young Chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum) // *Can. J. Zool.* 1981. 59. №8. P.1608-1611
117. Зотин А.И. Начальные стадии процесса затвердевания оболочек яиц лососевых рыб // Докл. АН СССР. 1953. Т.89. №3. С.573-576
118. Зотин А.И. Фермент затвердевания оболочек у яиц лососевых рыб // Докл. АН СССР. 1958. Т.121. №6. С.1105-1108.
119. Строганов Н.С. Резистентность икры волжской сельди (*Caspialoa volgensis*) к некоторым факторам внешней среды // Уч. зап. МГУ. 1939. №3. С.185-200.
120. Смешливая Н.В. Влияние химического состава воды на динамику прочности внешней оболочки икры чира *Coregonus nasus* / Смешливая Н.В., Семенченко С.М. // Материалы всероссийской конференции молодых учёных и специалистов: Аквакультура России: Вклад молодых. Тюмень, 22-23 ноября 2012 года. Тюмень: ФГУП Госрыбцентр, 2012. С. 136-142.
121. Галактионова Е.Л. Экспериментальное исследование воздействия солёности и рН на развивающуюся икру и личинок пеляди // Биология промысловых рыб и беспозвоночных на ранних стадиях развития. Мурманск, 1974. С.46-48.
122. Медников Б.М. Температура как фактор развития // Внешняя среда и развивающийся организм. М.: Наука, 1977. С.7-52.
123. Sunitha M.S., Jayaprakas V. Influence of pH, temperature, salinity and media on activation of motility and short term preservation of spermatozoa of an estuarine fish, *Mystus gulio* (Hamilton) (Siluridae-Pisces) // *Indian J. Mar. Sci.* 1997. 26(4). P.361-365.

124. Hajirezaee S., Jafaryan H., Asghari M., Golpour A., Mojazi Amiri B. Comparative analysis of milt quality in the cultured and wild stocks of endangered Caspian brown trout, *Salmo trutta caspius* // African Journal of Biotechnology. 2011. Vol.10(14). P.2762-2765.
125. Geffen A. J. Variations in sperm motility of the Atlantic herring *Clupea harengus* // Marine Biology. 1999. 134. P.637-643.
126. Cosson J., Groison A-L., Suquet M., Fauvel Ch., Dreanno C., Billard R. Marine fish spermatozoa: racing ephemeral swimmers // Reproduction. 2008. №136. P.277-294.
127. Bozkurt Y., Seçer S., Bekcan S. Relationship Between Spermatozoa Motility, Egg Size, Fecundity and Fertilization Success in *Salmo trutta abanticus* // Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri. 1974. №4. P.345-348.
128. Formicki K. Motility of whitefish (*Coregonus lavaretus* L.) spermatozoa kept in vitro // Folia Univ. agr. Stetin. Pisc. 1998. №184. P.35-40.
129. Смешливая Н.В., Семенченко С.М. Зависимость скорости дробления бластодиска зародышей сига-пыжьяна, тугуна и муксуна от температуры // Биология, биотехника разведения и состояние запасов сиговых рыб. Мат-лы седьмого международного науч.-произв. совещ. (Тюмень, 16-18 февр. 2010 г.). Тюмень, 2010. С.274-277
130. Stockley P., Gage M.J.G., Parker G.A., Moller A.P. Sperm competition in fishes: the evaluation of testis size and ejaculate characteristics // The American Naturalist. 1997. Vol.149. №5. P.933-954.
131. Smeshlivaya N. Dependence of *Coregonus* sperm motility duration on temperature / Smeshlivaya N., Semenchenko S. // Second NACEE Conference of Young Researchers. Szarvas, Hungary, 30-31 August 2010. HAKI, Scarvas, 2010. P. 26-28.
132. Смешливая Н.В. Динамика фертильности половых продуктов сиговых рыб (*Coregonidae*) после активации водой / Смешливая Н.В.,

Семенченко С.М. // Вестник рыбохозяйственной науки. 2014. Т.1. №. 1(1). С. 67-72.

133. Персов Г.М. Некоторые данные по выживаемости спермиев севрюги (*Acipenser stellatus*) // Докл. Ан. СССР. 1941. Т.33. №4. С.327-329.

134. Душкина Л.А. Способность икры и спермы сельди рода *Clupea* к оплодотворению при хранении в разных условиях // Вопросы ихтиологии. 1975. Т.15. Вып. 3 (92). С.473-479.

135. Строганов Н.С. Выживаемость спермы волжской сельди при разных внешних условиях // Зоологический журнал. 1938. Вып. 2. С.316-336.

136. Hatipologu T., Akcaу E. Fertilizing ability of short-term preserved spermatozoa Abant trout (*Salmo trutta abanticus* T, 1954) // Ankara Univ. Vet. Fat. Derg. 2010. 57. P.33-38.

137. Şahin T., Kurtođlu I., Balta F. Effect of Different Extenders and Storage Periods on Motility and Fertilization Rate of Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) Semen // Universal Journal of Agricultural Research. 2013. №1(3). P.65-69.

138. Мусселиус В.А. Как хранить молоки карпа и определять их качество // Рыбное хозяйство. 1951. №8. С.51-53.

139. Детлаф Т.А., Детлаф А.А. О безразмерных характеристиках продолжительности развития в эмбриологии // Докл. АН СССР, 1960. Т.134. №1. С.199-202.

140. Детлаф Т.А. Изучение временных закономерностей развития животных // Онтогенез. 1989. Т.20. №6. С.647-657.

141. Семенченко С. М. Зависимость скорости раннего эмбриогенеза байкальского омуля от температуры // Сб. науч. тр. ГосНИОРХ. 1992. Вып. 320. С.150-153.

142. Венглинский Д.Л., Шишмарев В.М., Мельниченко С.М., Паракецов И.А. Экологические аспекты естественного воспроизводства и охраны сиговых рыб // Морфоэкологические особенности рыб бассейна реки

Северной Сосьвы. Труды института экологии растений и животных. Вып. 121. Свердловск: УНЦ АН СССР, 1979. С.3-37.

143. Богданов В.Д. Экология молоди и воспроизводство сиговых рыб Нижней Оби: Автореферат диссерт. на соиск. учен. степени докт. диол. наук. М., 1997. 38 с.

144. Смешливая Н.В. Термотолерантность и терморезистентность эмбрионов пеляди (*Coregonus peled*) / Смешливая Н.В. // Вопросы аквакультуры. Тезисы докладов Первой конференции молодых учёных НАСЭЕ, г. Тюмень, 28-29 апреля 2009 г. – Тюмень: ФГУП «Госрыбцентр», 2009. С. 45-47.

145. Разработать интенсивную технологию инкубации и выращивания жизнестойкой молоди сиговых рыб за счёт активного управления эмбриогенезом (2015-2017 гг.) // Промежуточный отчёт о НИР Госрыбцентра. Этап II. Руководитель темы С.М. Семенченко. Тюмень, 2015. 48 с.

146. Мельникова М.Н. Лейзерович Х.А. Зависимость размерных показателей икры от размерно-возрастных характеристик самок атлантического лосося (*Salmo Salar* L.). Сб. науч. тр. ГосНИОРХ. 1979. Вып. 139. С.62-80.

147. Смешливая Н.В., Семенченко С.М. Взаимосвязь диаметра икры и размеров самок сиговых рыб Обь-Иртышского бассейна // Биология, биотехника разведения и состояние запасов сиговых рыб. Мат-лы седьмого международного науч.-произв. совещ. 16-18 февраля 2010 г. Тюмень, 2010. С. 271-274.

148. Микулин А.Е. Функциональное значение пигментов в онтогенезе рыб. М.: ВНИРО, 2000. 232 с.

149. Казаков Р.В. Зависимость качества спермы самцов атлантического лосося от интенсивности их использования на рыбводных заводах // Сб. науч. тр. ГосНИОРХ. 1979. Вып. 139. С.49-61.

150. Расс Т.С. Значение строения икринок и личинок для систематики рыб // Очерки по общим вопросам ихтиологии. М.: АН СССР, 1953. С.183-198.
151. Малышев В.И. Эмбриональное развитие тугуна // Известия ГосНИОРХ. 1974. Т.92. С.98-101.
152. Юхнева В.С. Наблюдения за нерестом и развитием икры сиговых рыб на реке Сыня // Озёрное и прудовое хозяйства в Сибири и на Урале. Тюмень, 1967. С.190-199.
153. Lindroth A. Time of activity of freshwater fish spermatozoa in relation to temperature // Zool. bidr. Uppsala. 1947. №25. P.165-168.
154. Турдаков А.Ф. Действие веществ икры и овариальной жидкости на сперматозоиды рыб // Вопросы ихтиологии. 1965. Т.5. Вып. 2(35). С.302-314.